ISSN 0181-1584

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 13 Fascicule 2 1992



PUBLICATION TRIMESTRIELLE
AVEC LE CONCOURS DU MUSÉUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE

Juin 1992

CRYPTOGAMIE
Mycologie

ANCIENNE REVUE DE MYCOLOGIE
Fondée par R. Heim en 1936

Directeur scientifique: Mme J. Nicot
Secrétaire de Rédaction: Mme M.C. Boisselier
Editeur: A.D.A.C. - 12 rue Buffon F-75005 Paris.

MANUSCRITS

Les manuscrits doivent être adressés directement à un membre du Bureau de Rédaction, choisi pour sa spécialité. Le Bureau peut demander l'avis d'un lecteur, même s'il n'appartient pas au Comité de Lecture. Bien qu'étant une revue de langue française, les articles rédigés en anglais, allemand, italien et espagnol sont acceptés. Les disquettes de micro-ordinateur (IBM, IBM compatible, et MacIntosh) sont vivement souhaitées. Les recommandations aux auteurs sont publiées dans le fascicule 1 de chaque tome. Les auteurs recevront 25 tirés-à-part gratuits; les exemplaires supplémentaires seront à leur charge.

TARIFS DES ABONNEMENTS Tome 13, 1992

CRYPTOGAMIE comprend trois sections: Algologie, Bryologie-Lichénologie, Mycologie.

Pour une section:	France: (326 F ht) 332,85 F ttc	- Étranger: 357,00 F
Pour les 3 sections:	France: (918 F ht) 937,28 F ttc	- Étranger: 1000,00 F

Paiement par chèque bancaire ou postal à l'ordre de:
A.D.A.C. - CRYPTOGAMIE (CCP La Source 34 764 05 S),
adressé à: A.D.A.C. 12, rue Buffon, F-75005 Paris.

CRYPTOGAMIE, Mycologie est indexé par *Biological Abstracts, Current Contents, Current Awareness in Biological Sciences,*
Publications bibliographiques du CNRS (Pascal).

CRYPTOGAMIE

MYCOLOGIE

TOME 13 FASCICULE 2 1992



CONTENTS



NUTRITIONAL GROWTH REQUIREMENTS FOR SUBMERGED CULTURES OF THE ECTOMYCORRHIZAL FUNGI *CENOCOCCUM GEOPHILUM* Fr.

Daniel JOB and Michel ARAGNO

Institut de Botanique, Université de Neuchâtel, Chantemerle 22,
CH-2007 Neuchâtel, Suisse

ABSTRACT - The capacity of *Cenococcum geophilum* to produce considerable biomass of submerged mycelial condensations in ten different culture media was tested. The best production was obtained with glucose ammonium tartrate (mycelium dry weight 4.52 mg ml), glucose ammonium chloride (4.05 mg ml) and Macaya-Lizano medium (3.72 mg ml). After testing different sources of hydrocarbons and of inorganic (NO3-, NH4+) and organic N (amino acids and undefined substances), a new optimized medium was developped resulting in a significant increase of biomass production (5.96 mg ml).

RÉSUMÉ - Dix types de milieux de culture ont été testés afin d'améliorer, en culture submergée, la production de mycélium de *Cenococcum geophilum*. Le meilleur rendement a été obtenu avec les milieux suivants: glucose / tartrate d'ammonium (poids sec du mycélium: 4,52 mg ml), glucose / chlorure d'ammonium (4,05 mg ml) et Macaya-Lizano (3,72 mg ml). Après avoir testé différentes sources de carbone, d'azote inorganique (NO3-, NH4+) et d'azote organique (acides aminés et substrats complexes) un nouveau milieu a été développé; il permet un accoissement significatif de la production de biomasse.

INTRODUCTION

The role of ectomycorrhizal fungi in the growth of woody plant species is of significant agricultural and ecological importance, and it is well established that many trees need an ectomycorrhizal association (Mauperin et al., 1987). Water and nutrient uptake from the surrounding ecosystem are considerably improved through the soil mycelium of the mycorrhizal fungi, due to increase in surface and absorption efficiency. Soil or seedlings inoculation with ectomycorrhizal fungi can render the introduction of tree species possible in areas which otherwise would not support their growth (Harvey, 1991). The first step in an artificial inoculation program requires the knowledge of the nutritional requirements of the fungus and the *in vitro* growth-optimization to produce suitable, low cost inocula.

Cenococcum geophilum has been frequently described in ectomycorrhizal association with economically important tree families: Myrtaceae, Salicaceae and Pinaceae (Trappe, 1962; Chilvers, 1968; Heslin & Douglas, 1986; Danielson & Pruden, 1989)

In spite of its ecological importance, very little information is available regarding the nutritional factors affecting its growth and biomass production in submerged culture.

In the present study we tested the capacity of *Cenococcum geophilum* to producing considerable biomass of submerged mycelial condensations in a whole range of different culture media. We can thus propose an optimized medium with the final objective of producing sufficient quantity of inocula for large-scale forest application.

MATERIALS AND METHODS

1. Strain

Experiments were done with strain X01-29 (collected in Birmensdorf, Zurich) supplied by Vitroculture SA., Porrentruy, Switzerland.

2. Preparation of mycelial inoculum

Shaken cultures of *Cenococcum geophilum* were grown in glucose ammonium chloride medium (pH 4.7) at 25 °C and 250 rpm. After an incubation period of 28 days, the mycelial condensations were aseptically homogenized and used as inoculum for all the experiments.

3. Biomass growth in different culture media

Cenococcum geophilum was grown in submerged cultures in the following media:

1- Molasses (molasses 30g),
2- Malt extract (malt extract 15g),
3- Modified Lutz (malt extract 10 g, NH_4NO_3 1g, $(NH_4)_2PO_4$ 1g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.025g),
4- Glucose alanine (glucose 10g, DL-alanine 1g, KH_2PO_4 2g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.2g),
5- Glucose peptone yeast (glucose 10g, peptone 10g, yeast extract 10g),
6- Melin-Norkrans' modified medium (KH_2PO_4 0,5g, $CaCl_2$ 0.05g, NaCl 0.025g, $(NH_4)2HPO_4$ 0.25g, $MgSO_4.7H_2$ O 0.15g, 1% solution of $FeCl_3$ 1.2ml, malt extract 3g, sucrose 20g),
7- Yeast malt extract (yeast extract 3g, malt extract 3g, peptone 5g, glucose 10g),
8- Macaya-Lizano (KH_2PO_4 1.5g, $ZnSO_4.7H_2O$ 0.2g, $(NH_4)_2SO_4$ 1g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.2g, $CaCl_2$ 0.4g, L-asparagine 1.12g, DL-serine 2g),
9- Glucose ammonium chloride (KH_2PO_4 0.5g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.5g, NH_4Cl 0.5g, glucose 10g, malt extract 5g, 1% solution of ferric citrate 0.5ml, glucose 10g),
10- Glucose ammonium tartrate (KH_2PO_4 1g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.5g, ammonium tartrate 1g, $ZnCO_4$ (1:500 aqueous solution) 0.5ml, glucose 30g, 1% solution of ferric citrate 0.5ml).

The compounds were dissolved in 1000 ml distilled H_2O. The pH of the media was adjusted to 5.0 with either HCl or NaOH before autoclaving, and after autoclaving 1.0 mg of biotin and 2.0 mg of thiamine were added to each medium tested.

For each medium tested, three 500 ml flasks containing 330 ml of sterile medium were inoculated with 10 g of freshly homogenized mycelia (0.3g dried weight). The flasks were incubated at 25°C for 21 days and flushed with 3 l/h sterile air. At the end of the incubation period the mycelial condensations were

washed and dried. The biomass was expressed as mg dry weight/ml culture medium.

4. Optimization of the medium

Cenococcum geophilum was grown in glucose ammonium tartrate standard medium modified as follows:

- carbohydrates: 8 different carbohydrates (2% w/v) were tested in a glucose-free medium (Table I)

- inorganic nitrogen: ammonium tartrate was substituted with 6 different sources of inorganic nitrogen with the same N-content (84 mg/l, Table I)

- organic nitrogen: 5 amino acids (10 mM) or 1 g/l complex substrates (casein hydrolysate (Fluka) or soybean meal peptone (Fluka)) were also tested (Table I).

For each modification, three tests were made in the same conditions as above and the biomass was measured.

The carbohydrate, inorganic and organic nitrogen source supporting maximum mycelial growth were chosen for further nutritional study. Different concentrations of these components were tested to determine the optimum level required for growth. Finally the effect of 1-2.5 ml/l of commercial safflower oil and soybean oil in the optimized medium was measured as before.

All the solutions used were autoclaved 20 minutes at 121°C, except vitamins that were sterilized by Millipore filtration (0.2μM membrane) and added to the cooled medium.

Culture medium	mycelia (mg dry weight/ml)
Molasses	1.58 ± 0.19
Malt extract	2.03 ± 0.22
Modified Lutz	2.31 ± 0.25
Glucose alanine	2.69 ± 0.23
Glucose peptone yeast	3.07 ± 0.27
Melin-Norkrans' modified medium	3.14 ± 0.29
Yeast malt-extract peptone	3.46 ± 0.30
Macaya-Lizano	3.72 ± 0.27
Glucose ammonium chloride	4.05 ± 0.31
Glucose ammonium tartrate	4.52 ± 0.29

Table I. - Dry weight of mycelia of *Cenococcum geophilum* (mean of 3 replicates) in the different culture media.

Tableau I. - Poids sec du mycélium de *Cenococcum geophilum* (moyenne de 3 expériences) sur les différents milieux.

RESULTS

1. Biomass production in different culture media

Table I shows the yields obtained in the 10 media tested. Glucose ammonium tartrate medium was chosen for further optimization.

2. Optimization of the culture medium

Of the 8 carbon sources tested, glucose and fructose gave maximum mycelial growth. No growth occurred with arabinose and cellulose, ribose, starch and cellobiose were unsuitable (Table II).

Among the inorganic sources of nitrogen, maximum growth was observed with di-ammonium tartrate, and good growth was also observed with ammonium chloride, ammonium nitrate and ammonium tartrate. No growth occurred with ammonium acetate or sodium nitrite. The yield was increased by addition of casein hydrolysate or peptone in the glucose ammonium tartrate medium (Table II).

Different concentrations of glucose, casein and di-ammonium tartrate were tested (fig. 1). From these results, the following optimized medium was designed: glucose 20 g, di-ammonium tartrate 0.25g, casein hydrolysate 1.5g, biotin 1mg, thiamine 2mg, KH_2PO_4 1g, $MgSO_4.7H_2O$ 0.5g, $ZnCO_4$ (1:500 aqueous solution) 0.5 ml and 1% solution of ferric citrate 0.5ml, giving a yield of 5.96 ± 0.33 mg dry weight ml.

No significant yield increase was obtained with the addition of commercial safflower oil (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5ml) or commercial soybean oil (0.5, 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 ml) to the optimized medium. Figure 2 compares the growth curves of *Cenococcum geophilum* (28 days, 25°C) in two standard media for ectomycorrhizal fungi: Melin-Norkrans' modified medium (MMN) and glucose ammonium tartrate medium (GAT) with our optimized medium (Gd-ATC: glucose di-ammonium tartrate casein medium).

DISCUSSION

The carbon requirements of *Cenoccocum geophilum* are similar to those of other mycorrhizal fungi (Palmer & Hacskaylo, 1970; Straatsma & Van Griensven, 1986). Glucose was the best carbon source for mycelial growth and this agrees with the general concept that, among all the hexoses, glucose is biologically the most effective energy source.

The failure of *Cenococcum geophilum* to grow with sodium nitrite resembles a common situation in fungi (Song et al., 1987), calcium nitrate produces low yields, probably due to precipitation with phosphates and N in the ammonium form is generally suitable for the fungi development. Melin & Mikola (1948) compared ammonium, casein hydrolysate and the individual amino acids leucine, proline, valine, histidine and arginine as N source for *Cenoccocum geophilum*. They showed that of all the amino acids tested, only arginine induced yields comparable with those obtained with ammonium, whereas casein hydrolysate sustained the best yield. Laiho (1970) using a series of strains of *Paxillus involutus* also compared growth performance on ammonium with those of several amino acids, and reported that only glutamic acid and arginine gave yields as high as those on ammonium. Our results also show (Table II) a good yield of the fungus on L-arginine and L-asparagine,

carbohydrates 2%	mg/ml (dry weight)	Inorganic nitrogen (84 mg)	mg/ml (dry weight)	Organic nitrogen (10 mM)	mg/ml (dry weight)
L (+) Arabinose	no growth	ammonium acetate	no growth	L-Proline	4.45 ± 0.26
Cellulose	1.53 ± 0.19	sodium nitrite	no growth	L-Glutamic acid	4.52 ± 0.25
D (-) Ribose	2.02 ± 0.23	calcium nitrate	1.91 ± 0.28	L-Alanine	4.56 ± 0.27
Starch	2.17 ± 0.21	ammonium nitrate	4.50 ± 0.31	L-Asparagine	4.97 ± 0.28
D (+) Cellobiose	2.86 ± 0.19	ammonium chloride	4.65 ± 0.32	L-Arginine	5.05 ± 0.32
D (+) Sucrose	3.66 ± 0.31	di-ammonium tartrate	4.91 ± 0.29	peptone 1g	5.12 ± 0.29
D (+) Trehalose	4.03 ± 0.25			casein hydrolysate 1g	5.43 ± 0.27
D (-) Fructose	4.39 ± 0.29				

Table II. - Mycelial growth (mg dry weight ml) of *Cenococcum geophilum* in glucose di-ammonium tartrate medium with different sources of carbon and nitrogen.

Tableau II. - Croissance du mycélium de *Cenococcum geophilum* (mg poids sec ml) dans le milieu de glucose di-ammonium tartrate avec différentes sources de carbone et d'azote.

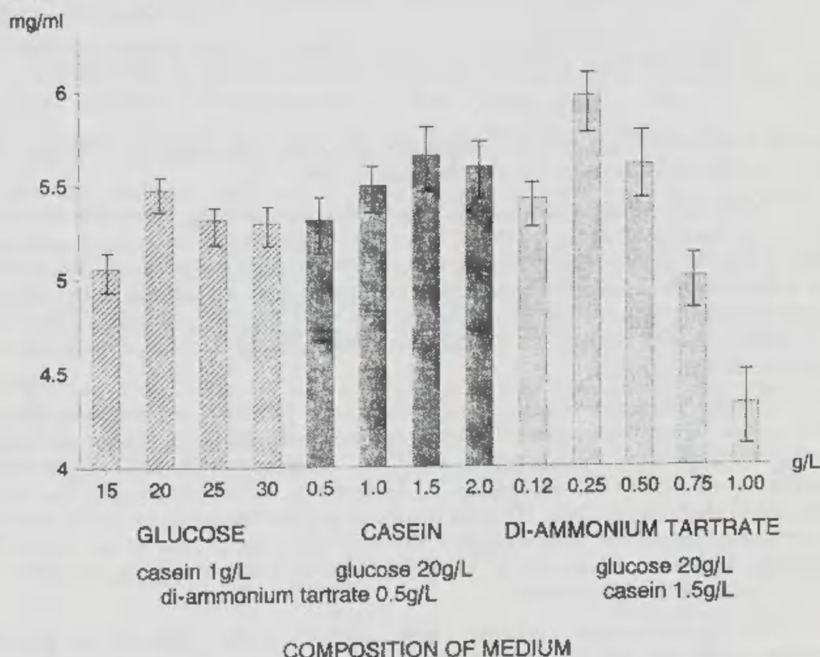


Fig.1: Biomass of mycelia (mg dry weight ml) obtained after 21 days, in media with different concentrations of glucose, casein hydrolysate or di-ammonium tartrate.

Fig.1: Biomasse du mycélium (mg poids sec ml) produite après 21 jours de croissance dans un milieu avec différentes concentrations de glucose, d'hydrolysat de caséine ou de di-ammonium tartrate.

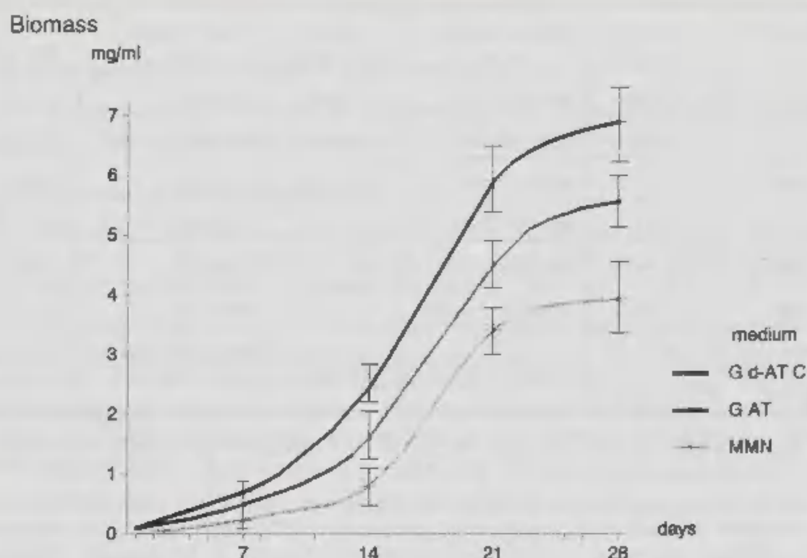


Fig. 2: Growth curves of *Cenococcum geophilum* in two standard media for ectomycorrhizal fungi (MMN and GAT) and in the Gd-ATC optimized medium.

Fig. 2: Courbes de croissance de *Cenoccocum geophilum* dans deux milieux standard pour champignons ectomycorrhiziques (MMN et GAT) et dans le milieu Gd-ATC.

however the optimal growth of submerged mycelia, was supported by the additions of complex substrates (ie. casein hydrolysate).

Although several reports indicate the stimulating effect of materials containing fatty acid on growth of ectomycorrhizal fungi, no significant yield increase was observed when commercial safflower oil or commercial soybean oil were added to the optimized medium. This failure may be related to the absence of lipases (triacylglycerol acylhydrolases, E.C. 3.1.1.3) which release free fatty acids from several sources that has been observed in *Cenoccocum geophilum* (Caldwell et al., 1991) .

Of the medium tested, Melin-Norkrans, Glucose ammonium chloride and Glucose ammonium tartrate were originally developped for the culture of ectomycorrhizal fungi, and often used in studies of growth requirements (Hacskaylo et al., 1965; Straatsma & Griensven, 1986; Torres & Honrubia, 1991). We showed (Table II) that sucrose supported only a poor yield of *Cenoccocum geophilum*; this explains the low biomass produced in the Melin-Norkrans' medium. However, a suitable yield of *Cenoccocum geophilum* was obtained with both other media.

The optimization reported here allowed yield increase in mycelial biomass of 30 % due to the addition of an organic N source and to the establishment of optimal concentrations for the main C and N sources. Contrary to the general idea that ectomycorrhizal fungi grow very slowly in liquid culture (Chapman et al., 1990) our results show that a correct optimization of the culture medium allows fast growth of considerable biomass in submerged cultures.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors wish to thank Vitroculture S.A. and CERS (project n°1404) for their financial support.

LITERATURE

CALDWELL B.A., CASTELLANO M.A. and GRIFFITHS R.P., 1991 - Fatty acid esterase production by ectomycorrhizal fungi. *Mycologia* 83: 233-236.

CHAPMAN W.K., BERCH S.M. and BALLARD T.M., 1990 - *In vitro* growth of ectomycorrhizal fungi on dilute agar. *Mycologia* 82: 526-527.

CHILVERS G.A., 1968 - Some distinctive types of eucalypt mycorrhizae. *Austral. J. Bot.* 16: 49-70.

DANIELSON R.M. and PRUDEN M., 1989 - The ectomycorrhizal status of urbans Spruce. *Mycologia* 81: 335-341.

HACSKAYLO E., PALMER P.J. and VOZZO J.A., 1965 - Effect of temperature on growth and respiration of ectotrophic mycorrhizal fungi. *Mycologia* 57: 748-756.

HARVEY L.M., 1991 - Cultivation techniques for the production of ectomycorrhizal fungi. *Biotechnol. Adv.* 9: 13-29.

HESLIN M.C. and DOUGLAS G.C., 1986 - Synthesis of Poplar mycorrhizas. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 86: 117-122.

LAIHO O., 1970 - *Paxillus involutus* as a mycorrhizal symbiont of forest trees. *Acta Forest. Fenn.* 106: 1-65.

MAUPERIN C., MORTIER F., GARBAYE J., LE TACON F. and CARR G., 1987 - Viability of an ectomycorrhizal inoculum produced in a liquid medium and entrapped in a calcium alginate gel. *Canad. J. Bot.* 65: 2326-2329.

MELIN E. and MIKOLA P., 1948 - Effects of some amino acids on the growth of *Cenoccocum graniforme*. *Physiol. Pl.* 1: 109-112.

PALMER J.G. and HACSKAYLO E., 1970 - Ectomycorrhizal fungi in pure culture. I. Growth on single carbon sources. *Physiol. Pl.* 23: 1187-1197.

SONG C.H., CHO K.Y. and NAIR N.G., 1987 - A synthetic medium for the production of submerged cultures of *Lentinus edodes*. *Mycologia* 79: 866-876.

STRAATSMA G. and VAN GRIENSVEN L.J.L.D., 1986 - Growth requirements of mycelial cultures of the mycorrhizal mushroom *Cantharellus cibarius*. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 87: 135-141.

TRAPPE J.M., 1962 - Fungus associates of ectotrophic mycorrhizae. *Bot. Rev.* 28: 538-606.

TORRES P. y HONRUBIA M., 1991 - Dinamica de crecimiento y caracterizacion de algunos hongos ectomicorricios en cultivo. *Cryptogamie, Mycol.* 12: 183-192.

Source : MNHN, Paris

VARIATIONS ALTITUDINALES DE LA FLORE FONGIQUE PARASITE DANS LE SUD DE L'ESPAGNE (*UREDINALES, ERYSIPHACEAE, USTILAGINALES*) ASPECTS QUANTITATIFS

par Jacques MERCÉ

Laboratoire Botanique et Forestier, Université Paul Sabatier,
39, Allée Jules Guesde, 31062 Toulouse Cedex

RÉSUMÉ - L'auteur étudie l'importance relative de trois groupes de champignons parasites (*Uredinales, Erysiphaceae, Ustilaginales*) de la végétation naturelle du sud de l'Espagne. La mise au point d'un Indice de Présence lui permet de comparer les populations de parasites dans les différents étages. Il montre la rareté des *Ustilaginales*, l'importance des *Uredinales*, en particulier dans l'étage Méditerranéen montagnard, et surtout l'abondance des *Erysiphaceae*. Dans cette famille, il met en évidence l'importance du genre *Leveillula* dans les étages d'altitude moyenne. Les résultats sont interprétés tant sur le plan biologique qu'écologique.

ABSTRACT - The author describes the extension and relative importance of the three groups of fungi (*Uredinales, Erysiphaceae, Ustilaginales*) pathogenic to natural plants in southern Spain. A presence Index is defined in order to compare parasite populations in the various vegetation levels. *Ustilaginales* are scarce, *Uredinales* are important, particularly in the mediterranean montane belt, and, above all, *Erysiphaceae* are abundant. In this family, the genus *Leveillula* predominate at mid-altitude. Results are discussed from the biological and ecological points of view.

MOTS CLÉS : Espagne, Andalousie, Ecologie, *Uredinales, Erysiphaceae, Ustilaginales.*

INTRODUCTION

Dans le cadre d'une étude des champignons parasites de la végétation naturelle du sud de l'Espagne, il a été effectué 2034 récoltes d'*Uredinales*, 236 d'*Ustilaginales* et 1533 d'*Erysiphaceae*. L'abondance de ce matériel a permis d'envisager l'étude de la répartition et de l'importance prise par chaque groupe fongique dans les différents étages de végétation.

MATÉRIEL UTILISÉ

Le matériel provient des relevés effectués en Andalousie (sud de l'Espagne) au cours de 27 mois de terrain. Les prospections ont été étalées d'avril à novembre, entre 1968 et 1982. Les premiers résultats ont déjà été publiés (Mercé 1970, 1973, 1974a-b, 1975a-b-c-d, 1986a-b ; Durrieu & Mercé, 1972).

Dans chaque station, les plantes parasitées ont été repérées et récoltées, sur une surface d'environ 2500 m^2 (50m x 50m). Ainsi, pour chaque relevé, on dispose de la liste des parasites et de leurs hôtes. Il s'agit de relevés de type présence-absence (Tab. 1).

Exemple de relevé:

- 11 juillet 1971 - 35 Km au nord de Granada - Altitude: 950m

Sous-étage Mésoméditerranéen.

Uredinales:
Gymnosporangium gracile sur *Crataegus monogyna*
Pileolaria terebinthi sur *Pistacia terebinthus*
Puccinia notobasidis sur *Notobasis syriaca*
Uromyces anthyllidis s.s.p. *physanthyllidis* sur *Anthyllis tetraphylla*

Erysiphaceae:
Erysiphe cichoracearum sur *Centaurea pullata*
Erysiphe heraclei sur *Daucus carotta*

Ustilaginale:
Ustilago bromivora sur *Bromus madritensis*

Soit, pour ce relevé: 4 *Uredinales*
2 *Erysiphaceae*
1 *Ustilaginale*

En totalisant les récoltes effectuées dans les 241 relevés réalisés dans le sous-étage Mésoméditerranéen[1], on obtient:

Uredinales	526
Erysiphaceae	552
Ustilaginales	72

L'ensemble des résultats est reporté dans le tableau 1.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1 - Importance relative des différents groupes dans les divers étages - problèmes d'interprétation

Pour chaque étage, le pourcentage des récoltes d'*Uredinales*, d'*Erysiphaceae*, et d'*Ustilaginales* a été établi. L'examen des graphiques (Fig. 1) fait apparaître trois ensembles d'étages:

- un premier ensemble, formé par les étages inférieurs (Littoral, Méditerranén inférieur semi-aride et Méditerranéen inférieur sec). Il se caractérise par une prédominance très nette des *Uredinales* sur les autres groupes.

- un deuxième ensemble, formé par les étages moyens (Euméditerranéen, Mésoméditerranéen et Méditerranéen supérieur). Il est caractérisé par un faible rôle des *Ustilaginales* et surtout par l'importance des *Erysiphaceae*. Celles-ci jouent un rôle aussi important, voire plus grand que celui des *Uredinales*.

[1] cf. note en fin de texte.

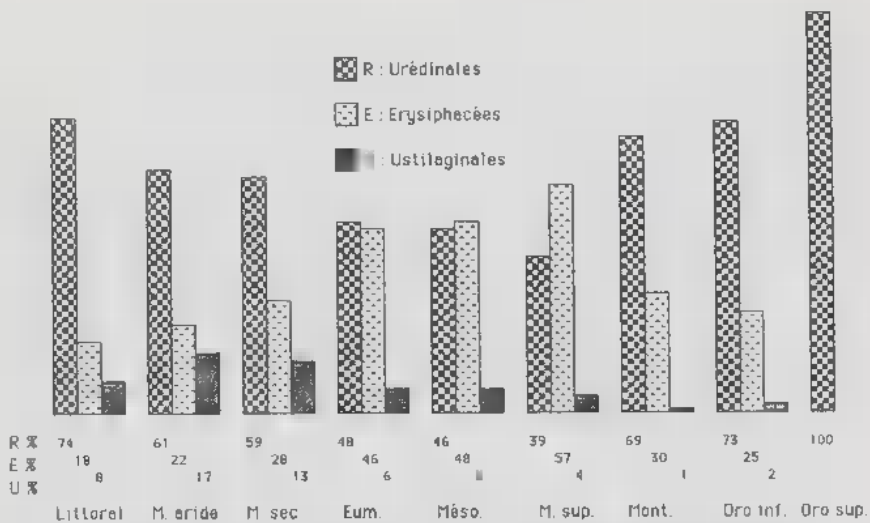


Figure 1. - Importance relative, dans les étages, des différents groupes de parasites.

Figure 1. - Relative frequencies of the various parasite groups in different vegetation levels.

- un troisième ensemble, formé par les étages supérieurs (Méditerranéen montagnard et Oroméditerranéen inférieur et supérieur) où les *Uredinales* redeviennent largement prépondérantes.

Les *Erysiphaceae* occupent encore une faible place dans le Méditerranéen montagnard et l'Oroméditerranéen inférieur tandis que les *Ustilaginales* ne jouent qu'un rôle insignifiant.

L'étude réalisée en Andalousie amène à des conclusions assez différentes de celles de Durrieu (1966), qui indique pour les Pyrénées, que "l'homogénéité des trois graphiques concernant les étages Méditerranéen, Collinéen et Montagnard, est remarquable. Tous les groupes y sont représentés dans des proportions presque constantes: nette prédominance des *Uredinales*, égalité approximative entre *Ustilaginales* et *Erysiphaceae*...". De même, il signale la disparition des *Erysiphaceae* dans l'étage Littoral. Dans les étages de haute montagne, parallèlement à la diminution, puis à la disparition des *Erysiphaceae*, il observe une augmentation de l'importance des *Ustilaginales*.

En Andalousie, les répartitions s'avèrent assez différentes: les *Erysiphaceae* sont peu abondantes, mais présentes dans le Littoral. Les *Ustilaginales*, rares ou absentes en altitude, sont surtout fréquentes dans les étages inférieurs. Mais le fait essentiel paraît être l'importance prise par les *Erysiphaceae*, dans les étages moyens (Mésoméditerranéen et Méditerranéen supérieur). Cependant les résultats obtenus par cette méthode ne sont pas entièrement satisfaisants, certaines données étant dissimulées par le calcul en pourcentage. Que représentent, par exemple, les 100% d'*Uredinales* dans l'Oroméditerranéen supérieur? La seule conclusion que l'on puisse tirer concerne l'absence des autres groupes. Or, les relevés de terrain montrent que les

Rouilles, seuls parasites présents, sont assez rares. Ce sont ces considérations qui m'ont conduit à la mise au point d'un Indice de Présence.

2 - Mise au point d'un indice de présence

- Définition, Calcul

L'examen du tableau 1 montre que le nombre de relevés effectués par étage est variable (de 53 à 241). Il n'est donc pas possible de comparer directement le nombre de récoltes obtenues dans les différents étages. C'est pourquoi, pour chacun d'eux, les résultats ont été recalculés sur une base de 50 relevés.

L'indice de Présence d'un parasite fongique (espèce, genre, famille,...) pour un milieu donné (formation, étage,...) s'obtient en effectuant 50 relevés répartis dans l'espace (ensemble de la surface étudiée) et dans le temps (période considérée: année, période végétative, saison, mois,...).

La valeur de l'Indice de Présence correspond au nombre de relevés où le parasite est présent.

Dans le cadre de l'étude d'une espèce, l'Indice de Présence correspondra au nombre de stations où le parasite aura été observé. Il sera donc inférieur ou, au maximum, égal à 50.

Lorsque l'on étudie un genre, une famille, bref un ensemble de parasites, le problème est un peu différent. On peut:

- soit considérer la présence ou l'absence de ce groupe dans chaque station. Dans ce cas l'Indice de Présence sera inférieur ou, au maximum, égal à 50.

- soit, pour mieux évaluer son importance, totaliser les Indices de Présence des espèces qui le composent. Le total peut alors être supérieur à 50. On peut aussi le calculer directement, à partir du nombre de relevés et du nombre de récoltes déjà totalisé.

Etages	Nombre de relevés	Nombre de récoltes			Indice de Présence global		
		R	E	U	R	E	U
Oroméditerranéen supérieur	53	38	0	0	36	0	0
Oroméditerranéen inférieur	66	79	28	2	60	21	2
Méditerranéen montagnard	133	386	167	4	145	63	2
Méditerranéen supérieur	86	183	262	17	106	152	10
Mésoméditerranéen	241	526	552	72	109	115	15
Euméditerranéen	174	373	350	49	107	100	14
Méditerranéen inférieur sec	110	229	109	51	104	50	23
Méditerranéen inférieur semi-aride	73	99	35	28	68	24	19
Littoral	88	121	30	13	69	17	7

R: Uredinales E: Erysiphaceae U: Ustilaginales

Tableau 1

- **Exemple:** pour les 241 relevés dans le sous-étage Mésoméditerranéen (Tab. 1), le nombre total de récoltes d'*Uredinales* est de 526. Une simple règle de trois permet de calculer le nombre d'*Uredinales* que l'on aurait, en moyenne, récolté dans 50 relevés, à savoir 109. Ce nombre correspond à l'Indice de Présence de l'ensemble des *Uredinales* dans le Mésoméditerranéen, ceci pour la période considérée.

Dans ce travail, c'est ce dernier mode de calcul qui a été retenu pour les trois groupes de parasites étudiés.

Lorsque la période envisagée correspond à l'année ou à la quasi totalité de la période végétative, ce qui est le cas dans ce travail, la dénomination Indice de Présence Global sera utilisée.

Cet indice a pour avantage de permettre la comparaison de l'importance des trois groupes de parasites entre eux, ceci dans les divers étages, en éliminant les problèmes liés aux nombres différents de relevés effectués dans chacun des étages.

Les valeurs obtenues et inscrites dans le tableau 1 ont été visualisées dans la figure 2.

- **Interprétation des résultats**

L'examen des valeurs de l'Indice de Présence Global, visualisées dans la figure 2, fait apparaître les trois ensembles d'étages déjà signalés au paragraphe 1.

- Premier ensemble (Littoral, Méditerranéen inférieur semi-aride et Méditerranéen inférieur sec). Nette prédominance des *Uredinales* sur les autres groupes de parasites.
- Deuxième ensemble (Euméditerranéen, Mésoméditerranéen et Méditerranéen supérieur). Les *Erysiphaceae* sont aussi nombreuses, si ce n'est plus, que les *Uredinales*. Les *Ustilaginales* ne jouent qu'un rôle secondaire.
- Troisième ensemble (Montagnard, Oroméditerranéen inférieur et supérieur). Les *Uredinales* sont à nouveau le groupe essentiel.

Le développement étonnant que prend la famille des *Erysiphaceae* dans les étages moyens a conduit à étudier en détail cette famille et à réaliser l'importance et l'originalité du genre *Leveillula*[2]. C'est pourquoi ce genre a été séparé du reste des *Erysiphaceae*. Dans la suite de cette étude, les quatre groupes de parasites suivants sont envisagés:

R: *Uredinales*
O: *Erysiphaceae:* ensemble des genres autres que *Leveillula*
L: *Erysiphaceae:* genre *Leveillula*
U: *Ustilaginales*

3 - Etude des différents groupes de parasites (R.O.L U.)

Cette étude sera réalisée à partir des valeurs de l'Indice de Présence Global portées dans le tableau 2 et visualisées dans la figure 3.

---

(2) Ce problème sera abordé dans un article concernant le genre *Leveillula* (à paraître).

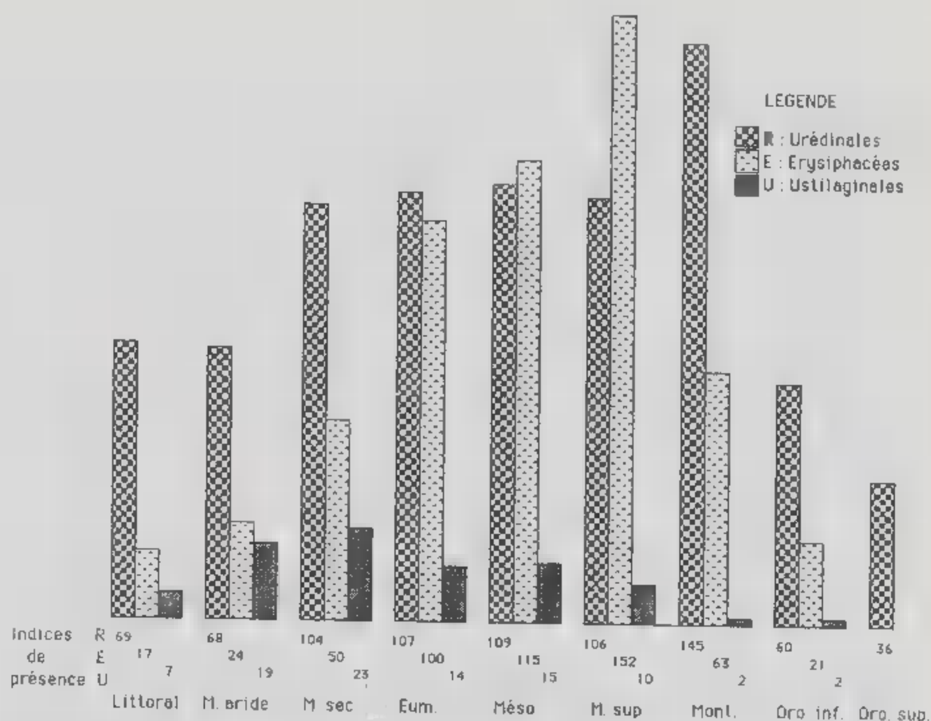


Figure 2. - Importance des trois groupes de parasites dans les étages grâce à l'Indice de Présence Global.

Figure 2. - Global Presence Index of three parasite groups in different vegetation levels.

UREDINALES

- Analyse des valeurs de l'Indice

Celles-ci gardent une même importance dans le Littoral et le Méditerranéen inférieur semi-aride. Elles sont plus abondantes du Méditerranéen inférieur sec au Méditerranéen supérieur, étages où elles semblent avoir à peu près la même importance. Il est par contre intéressant de noter que le Méditerranéen montagnard leur semble particulièrement favorable, puisque c'est là qu'elles atteignent leur développement maximum. Elles diminuent ensuite rapidement d'importance avec l'augmentation d'altitude, mais restent présentes jusqu'aux parties les plus élevées de l'Oroméditerranéen supérieur.

- Interprétation biologique et écologique

D'un point de vue biologique, on constate que les *Uredinales* présentent une activité semblable dans le Littoral et le Méditerranéen inférieur semi-aride, activité plus faible que dans les autres étages. La faible valeur de l'Indice de Présence Global peut partiellement s'expliquer dans l'étage Littoral par la présence du chlorure de sodium. Par contre, l'Indice calculé dans le Méditerranéen inférieur semi-aride (région d'Almeria), nettement inférieur à ce-

Etages	Nombre de relevés	Nombre de récoltes				Indice de présence global				Indice total de parasitisme
		R	O	L	U	R	O	L	U	
Oroméditerranéen supérieur	53	38	0	0	0	36	0	0	[redacted]	36
Oroméditerranéen inférieur	66	79	21	7	2	60	16	5	2	83
Méditerranéen montagnard	133	386	114	53	4	145	43	20	2	210
Méditerranéen supérieur	86	183	133	129	17	106	77	75	10	268
Mésoméditerranéen	241	526	336	216	72	109	70	45	15	239
Euméditerranéen	174	373	252	98	49	107	72	28	14	221
Méditerranéen inférieur sec	110	229	85	24	51	104	39	11	23	177
Méditerranéen Inférieur semi-aride	73	99	28	7	28	68	19	5	19	111
Littoral	88	121	27	3	13	69	15	2	7	93

R: Urédinales O: Erysiphacées (sauf genre *Leveillula*) L: genre *Leveillula* U: Ustilaginales

Tableau 2

lui des étages suivants, ne peut être expliqué que si l'on tient compte de deux facteurs.

Premier facteur: l'absence de relevés en hiver, dans une zone où la végétation reste active en cette saison. Un certain nombre de parasites ont donc échappé aux investigations.

Deuxième facteur: les conditions climatiques défavorables qui ont régné en Andalousie au cours de la période où ont été réalisées une partie des prospections. Les pluies, déficitaires et très irrégulières, ne permettaient pas aux phanérogames de fructifier, d'où une diminution du stock de graines et un appauvrissement de la végétation. Parallèlement, ces phénomènes empêchaient la multiplication des micromycètes. Le cycle végétatif suivant montrait une raréfaction des annuelles et des parasites. De plus, ces périodes sèches ont été aggravées, dans cette région, par la persistance des vents d'ouest secs, qui empêchaient les condensations nocturnes. La diminution des périodes humides a limité les possibilités d'installation des *Uredinales*, ce phénomène s'ajoutant à la raréfaction des hôtes.

Les étages suivants: Méditerranéen inférieur sec, Euméditerranéen, Mésoméditerranéen et Méditerranéen supérieur fournissent aux *Uredinales* des conditions de vie comparables. Les Indices de Présence sont très voisins (104 à 109). Les analyses statistiques réalisées tant sur les valeurs de l'I.P.G. que sur les relevés bruts ont confirmé que ces valeurs ne sont pas significativement différentes entre elles.

La forte valeur de l'Indice de Présence, enregistrée dans le Méditerranéen montagnard, peut s'expliquer lorsque l'on étudie en détail le climat de cet étage. Le fait qu'il soit froid et souvent enneigé en hiver, n'influence en rien les parasites et leurs hôtes, tous au repos. Le printemps y est plus humide que dans les étages inférieurs. Ce fait va déjà favoriser les Rouilles en facilitant la germination des spores. Le climat de l'été paraît particulièrement intéressant pour la biologie des *Uredinales*. Lorsque le beau temps s'installe, le

climat qui règne dans cette zone est loin de ressembler à celui qui baigne la hêtraie-sapinière du versant nord des Pyrénées. Sa sécheresse et son ensoleillement sont nettement méditerranéens. Mais, ici, intervient un autre phénomène climatique, à savoir les orages. Ceux-ci se forment sur les reliefs élevés (Sierra Nevada, Serrania de Ronda). S'ils donnent parfois des ondées aussi brèves que violentes, le plus souvent, ils n'éclatent pas, mais les nuages provoquent durant quelques heures la formation de rosées. Dans les deux cas, les spores d'*Uredinales* profitent des gouttes d'eau déposées sur les feuilles pour germer. La période de végétation possible pour les Rouilles débute encore plus tard que dans les étages inférieurs, mais elle n'est pas interrompue par la sécheresse estivale et se prolonge tout l'été. Elle est donc, au total, beaucoup plus longue que dans les zones inférieures, ce qui doit favoriser la multiplication des parasites et expliquer la valeur élevée de l'Indice de Présence Global.

Au-dessus, l'augmentation de l'altitude, avec ses conséquences (raccourcissement de la période favorable, abaissement de la température moyenne, raréfaction des hôtes), entraîne d'une manière normale une diminution de l'abondance des *Uredinales*.

ERYSIPHACEAE (autres que le genre *LEVEILLULA*)

- Examen et analyse des valeurs de l'Indice

L'examen de ces valeurs montre qu'elles augmentent jusqu'à l'Euméditerranéen. Cet étage, le Mésoméditerranéen et le Méditerranéen supérieur, présentent des Indices voisins. Au-delà, on assiste à une chute rapide due à l'augmentation d'altitude (mêmes raisons que pour les *Uredinales*).

- Interprétation biologique et écologique

Sur le Littoral, le chlorure de sodium semble avoir une action néfaste très nette sur le mycélium externe de ces champignons. Toutes les *Erysiphaceae* observées dans cet étage se trouvaient à la limite de ce milieu, donc dans les zones les moins soumises à l'action du sel. Les faibles valeurs de l'Indice, observées dans tout le Méditerranéen inférieur, peuvent partiellement s'expliquer par l'abondance des années sèches lors des prospections et par l'absence de relevés en hiver (cf. paragraphe précédent - *Uredinales*). Des prospections réalisées au cours de cette période permettraient de couvrir toute la période d'activité des hôtes et des parasites. Cela provoquerait peut-être une élévation de la valeur des Indices pour cet étage tant pour la partie semi-aride que pour la sèche, et donnerait une idée plus exacte de la réalité.

Dans l'Euméditerranéen, le Mésoméditerranéen et le Méditerranéen supérieur, les conditions de développement que rencontrent les parasites doivent être semblables. En effet, malgré les bioclimats différents, les Indices de Présence ont des valeurs semblables. Au-delà, l'augmentation d'altitude entraîne une diminution de l'Indice qui s'avère plus rapide que pour les *Uredinales*. Les *Erysiphaceae* ne semblent pas être adaptées aux conditions d'altitude, ce qui expliquerait leur absence dans l'Oroméditerranéen supérieur.

GENRE *LEVEILLULA*

- Examen et analyse des valeurs de l'Indice

On observe, dans le Littoral et le Méditerranéen inférieur semi-aride, un Indice de Présence Global très faible. Au-delà, il augmente rapidement pour

culminer dans le Méditerranéen supérieur, puis subir une chute brutale. D'un étage à l'autre, les écarts sont importants.

- Interprétation biologique et écologique

La courbe que dessine l'Indice de Présence, avec son pic dans le Méditerranéen supérieur, indique clairement que c'est à ce niveau que ce parasite trouve les conditions de développement optimales. Ce genre, longtemps considéré comme typiquement méditerranéen, semble en fait trouver son terrain d'élection dans les moyennes montagnes de cette zone, entre 800m et 1500m d'altitude.

USTILAGINALES

- Examen et analyse des valeurs de l'Indice

L'examen de la figure 3 fait apparaître la faible importance de ce groupe, ainsi que son cantonnement dans les zones basses et moyennes, du Méditerranéen inférieur semi-aride au Mésoméditerranéen.

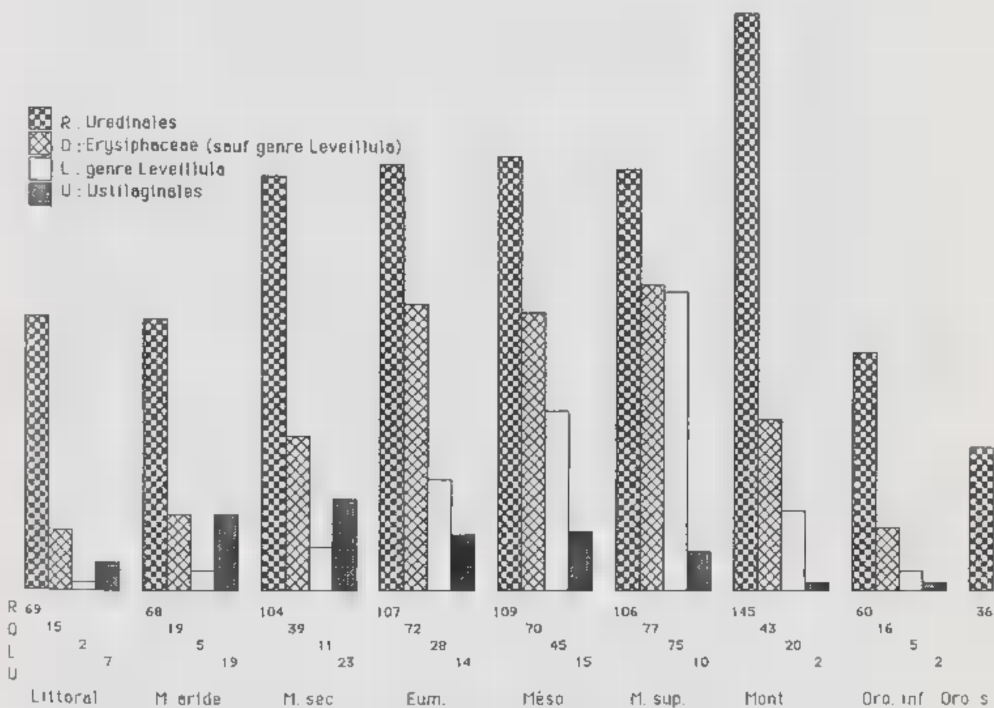


Figure 3. - Importance des quatre groupes de parasites dans les étages, grâce à l'Indice de Présence Global, et répartition du genre *Leveillula*.

Figure 3. - Global Presence Index of four parasite groups in different vegetation levels with emphasis on the genus *Leveillula*.

- Interprétation biologique et écologique

La localisation de l'activité de ce groupe de parasites dans les zones basses est inverse de celle qu'observe Durrieu (1966). Ce dernier signale un développement important des *Ustilaginales* dans les parties les plus élevées des Pyrénées, et se pose la question de savoir si "ces parasites seraient mieux armés que les autres pour résister aux conditions particulièrement dures du milieu alpin". Les raisons qu'il invoque peuvent également permettre à ces champignons de subsister et de se multiplier dans les zones les plus sèches du sud de l'Espagne.

CONCLUSION

La mise au point et l'utilisation d'un Indice de Présence a permis de mettre en évidence certaines caractéristiques de la flore fongique parasite de la végétation naturelle du sud de l'Espagne. Les points essentiels sont les suivants:

- le rôle prépondérant des *Uredinales* et des *Erysiphaceae*.
- la faible importance des *Ustilaginales*.
- l'importance prise par les *Uredinales* dans l'étage Méditerranéen montagnard.
- l'abondance des *Erysiphaceae* en basse et moyenne altitude.
- le rôle important joué par le genre *Leveillula*, en particulier aux altitudes moyennes.
- le découpage de la dition en quatre zones constituées par:

1 - l'étage Littoral, caractérisé par la présence de chlorure de sodium. Sa flore fongique parasite, assez réduite, est dominée par les *Uredinales*.

2 - l'étage Méditerranéen inférieur (sous-étages Méditerranéen inférieur semi-aride et Méditerranéen inférieur sec). La flore fongique, un peu plus abondante que dans l'étage Littoral, y est également dominée par les *Uredinales*.

3 - les étages Méditerranéen moyen (sous-étages Euméditerranéen et Mésoméditerranéen) et Méditerranéen supérieur. C'est dans ces étages que le total des Indices de Présence est le plus élevé. Ces zones semblent plus favorables que les autres aux micromycètes parasites. Les *Uredinales* y sont abondantes, mais ce sont les *Erysiphaceae* qui forment le groupe le plus important.

4 - les étages supérieurs: Méditerranéen montagnard et Oroméditerranéen. Les *Uredinales* restent le groupe le plus important, alors que les *Erysiphaceae* et les *Ustilaginales* disparaissent rapidement avec l'augmentation d'altitude.

o

o o

Note: Les échelons utilisés, basés sur les bioclimats, peuvent être appelés "étages de végétation bioclimatiques". Le découpage utilisé dans ce texte figure dans le tableau ci-dessous, en parallèle avec ceux d'autres auteurs.

L'étage Littoral ne peut être comparé aux autres étages: aux caractéristiques bioclimatiques (celles de l'étage qu'il jouxte, plus l'influence de la mer) s'ajoute la présence de chlorure de sodium. Cet élément chimique en fait un milieu particulier: c'est pourquoi il n'apparaît pas dans ce tableau.

Ozenda (1975)	Quezel (1979)	Rivas-Martinez (1980)	Mercé (1984)	
Alti-méditerranéen	Alti-méditerranéen	Cryoro-méditerranéen	Oro-méditerraneen	supérieur
	Oro-méditerraneen			inférieur
Oro-méditerranéen	Montagnard-méditerranéen	Oro méditerranéen	Méditerranéen montagnard	
Supra-méditerranéen	Supra-méditerranéen	Supra méditerranéen	Méditerranéen supérieur	
Méso-méditerranéen	Méso-méditerranéen	Méso-méditerranéen	Méditerranéen moyen	Méso-méditerranéen
				Eumé-méditerranéen
Thermo-méditerranéen	Thermo-méditerranéen	Thermo-méditerraneen	Méditerranéen inférieur	sec
				semi-aride

Confert également les articles suivants:
- Bioclimats du sud de l'Espagne (Andalousie). Mercé (1988).
- Végétation du sud de l'Espagne (Andalousie). Mercé (1989).

BIBLIOGRAPHIE

DURRIEU G., 1966 - Etude écologique de quelques groupes de champignons parasites des plantes spontanées dans les Pyrénées. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 106: 7-277.

DURRIEU G. et MERCÉ J., 1972 - *Erysiphaceae* du sud de l'Espagne. *Bull. Soc. Mycol. France* 87: 175-191.

MERCÉ J., 1970 - *Uredinales* du sud-est de l'Espagne. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 106: 341-351.

MERCÉ J., 1973 - Rouilles des Composées de la Cordillère Bétique (Première partie). *Ibid.* 109: 369-387.

MERCÉ J., 1974a - Rouilles des Composées de la Cordillère Bétique (Deuxième partie). *Ibid.* 110: 55-73.

MERCÉ J., 1974b - Rouilles des Composées de la Cordillère Bétique - Genre *Centaurea* (Troisième partie). *Ibid.* 110: 291-296.

MERCÉ J., 1975a - *Erisifaceos* de la Cordillera betica. Corologia y ecologia. *Anales Inst. Bot. Cavanilles* 32: 705-729.

MERCÉ J., 1975b - Royas de las Umbelliferas de las Sierras Andaluces. *Lagascalia (Rev. Fac. Sci. Sevilla)* 5: 27-34.

MERCÉ J., 1975c - Les Rouilles des Graminées de l'Andalousie (Taxonomie et chorologie). *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 111: 165-178.

MERCÉ J., 1975d - Les champignons phytopathogènes du sud de l'Espagne: aspects écologiques. *Rev. Mycol. (Paris)* 39: 233-235.

MERCÉ J., 1984 Champignons parasites, végétation et bioclimats du sud de l'Espagne (Erysiphacees, *Ustilaginales*, *Uredinales*). Thése de Doctorat d'Etat n° 1130. Université Paul Sabatier, Toulouse.

MERCÉ J., 1986a - Les cycles des *Uredinales* en fonction de leur localisation. *Bull. Soc. Hist. Nat. Toulouse* 122: 113-117.

MERCÉ J., 1986b - Relations entre écologie et systématique chez les Rouilles des Graminées. *Cryptogamie, Mycol.* 7: 319-325.

MERCÉ J., 1988 - Bioclimats du sud de l'Espagne (Andalousie). *Ecol. Medit.* 14: 65-76 (plus une carte en couleur des bioclimats au 1/800000).

MERCÉ J., 1989 - Végétation du sud de l'Espagne (Andalousie). *Gaussenia* 5: 3-64 (plus une carte en couleur de la végétation au 1/800000).

OZENDA P., 1975 - Sur les étages de végétation dans les montagne du bassin Méditerranéen. *Doc. Cartogr. Ecol.* 16: 1-32.

QUEZEL P., 1979 - La région méditerranéenne française et ses essences forestières. Signification écologique dans le contexte circum méditerranéen. *Forêt Médit.* 1: 7-18.

RIVAS MARTINEZ S., 1980 - Les étages bioclimatiques de la végétation de la Péninsule Ibérique. *Anales Jard. Bot. Madrid* 37: 251-268.

CORTINARIUS BISPORIGER SPEC. NOV., UNA NUOVA SPECIE DEL SUBGEN. *PHLEGMACIUM* DALLA SARDEGNA MERIDIONALE

Marco CONTU

via A. Manzoni, 33.09128, Cagliari. Italia.

ABSTRACT - A new species of *Cortinarius* subgen. *Phlegmacium*, *C. bisporiger* spec. nov., is described from southern Sardinia. The new species is very well characterized by small size, colours, bisporic basidia and small spores. It grows in association with *Eucalyptus camaldulensis*.

RÉSUMÉ - Une nouvelle espèce de *Cortinarius* subgen. *Phlegmacium*, *C. bisporiger* spec. nov., est décrite de la Sardaigne méridionale. La nouvelle espèce est bien caractérisée par sa taille petite, ses colorations, ses basides bisporiques et ses petites spores. Il croît en association avec *Eucalyptus camaldulensis*.

MOTS CLÉS : *Basidiomycetidae*, *Agaricales*, *Cortinarius*, subgen. *Phlegmacium*, *C. bisporiger*, Sardaigne.

INTRODUZIONE

Da molto tempo, ormai, gli impianti artificiali frangivento composti da *Eucalyptus* divv. specc. costituiscono uno degli aspetti piu' significativi non solo della flora sarda ma anche di quella mediterranea in genere. Essi sono molto diffusi in tutta la Sardegna, dove costituiscono le principali essenze arboree utilizzate per i rimboschimenti. Questi impianti ospitano una flora micologica piuttosto ridotta (a causa dell'estrema secchezza e poverta' del substrato) ma altamente significativa e, in molti casi, del tutto peculiare. Prescindendo dal contingente di specie per c.d. occasionali (ossia non legate esclusivamente allo *Eucalyptus*) possiamo citare, fra le entita' simbionti exclusive, alcune assai peculiari come *Descolea rheophylla* (Mal. & Bert.) Mal., *Laccaria lateritia* Mal., *Amanita gioiosa* S. Curreli, fra le *Agaricales*, e *Setchelliogaster tenuipes* (Stech.) Pouzar fra i *Gasteromycetes* agaricoidi. Esistono, tuttavia, alcune specie ulteriori, molto rare e poco diffuse, che sembrano legate, come le precedenti, a tali essenze ma per le quali non esiste ancora una descrizione ufficiale. Una di queste ultime costituisce l'oggeto della presente comunicazione. Essa appartiene al genere *Cortinarius*, sicuramente il piu' difficile fra quelli esistenti e probabilmente gravemente inflazionato di epiteti, ma mostra une combinazione di caratteri talmente significativa che il suo futuro riconoscimento sara' estremamente agevole. Noi la conosciamo da una sola stazione nella quale, tuttavia, essa compare regolarmente e in truppe numerose da diversi anni. Notizie in merito ci sono state fornite anche dal sig. Salvatore Curreli (S. Gavino), che *in verbis* ci ha fatto presente di conoscere bene il fungo da diverse

stagioni ma di non averlo sufficientemente studiato. Poiche' i caratteri dell'entita' in discussione non coincidono con quelli di alcun'altra specie descritta si rende opportuna la sua descrizione sotto un nuovo nome.

Cortinarius bisporiger **Contu, spec. nov.**

Pileus 1.5-6cm latus, carnosus, convexus dein explanatus, haud umbonatus; margine non striato; cutis viscida, hygrophana, brunneo-fulva dein pallide ochracea vel flava, ad medium saepe obscurior. Velum araneosum, haud conspicuum, albidum, in juventute visibile ad marginem pilei. Lamellae sat spissae, modice confertae, uncinato-adnatae, flavo-ochraceae, in senectute brunneo-ochraceae; acie clariore. Stipes 2-4.5 x 0.8-1.5 cm, solidus, sat curtus, cylindraceo-bulbosus sed bulbo haud marginato, interdum napiformi; indumentum siccum, inferne in bulbo albidum at leve, aliunde flavum, conspicue fibrillosum, tactu brunnescens. Caro conspicua, fracta albida vel flava, in pileo obscurior, immutabilis; odor saporque debiles, subnulli. Ope NH_4OH *ad roseum vergit. Sporarum pulvis brunnea. Sporae 7.5-9.7 x 4.5-5.7 µm, ochraceae, ellipsoideae, interdum ad apicem attenuatae, verrucosae. Basidia 27-38 x 6.7-7.5 µm, mom vel bispora, clavata. Cystidia nulla. Pilei cutis ex ixocute constituta, hyphis 3-4.5µm latis, cylindraceis, vacuolo pigmentatis; hyphae subcutis pigmento intraparietali praeditis. Fibulae praesentes sed haud constantes.*

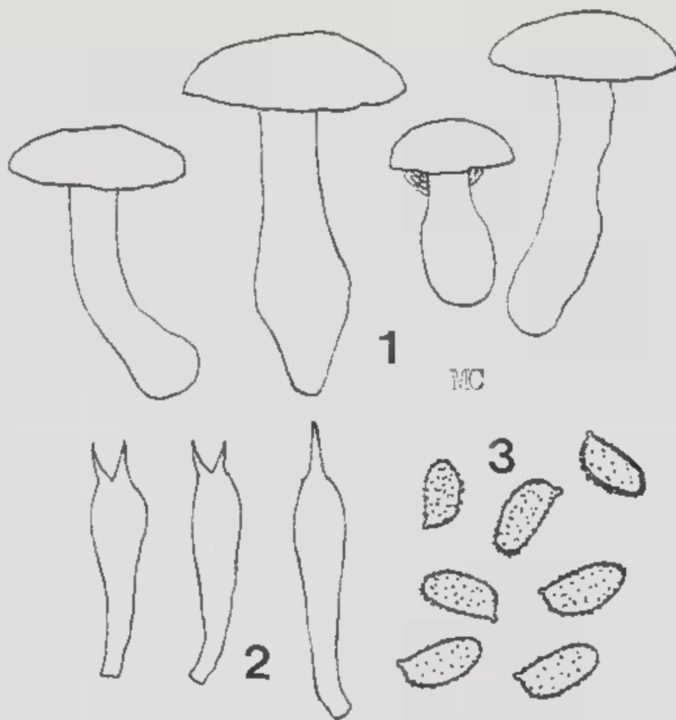
Hab. - gregarius vel caespitosus sub Eucalypto camaldulensi, in regione mediterranea. Serus. - Typus: M. Contu 91120801, Sardinia meridionalis, prov. Cagliari, Sanluri-Stato, Eucalyptus camaldulensis, 8.XII.1991, leg. M. Contu, M. Masia et E. Calamida (CAG !).

A sociis statura parva, coloribus, basidiis bisporis habitationeque stricta sub Eucalyptis manifeste differt. In subgenere Phlegmacium sectione Scauri locandus est.

Cappello 1.5-6cm, carnoso, convesso poi spianato e sovente irregolarmente depresso al centro, non umbonato, margine liscio, assai di rado leggermente striato, talora frastagliato-lobato; cuticola separabile, notevolmente viscida ed inglobante particelle di terra e foglie secche, igrofana, da fulva, bruno-fulva chiara a giallo-ocraceo pallido, centro sovente tendente a permanere fulvastro, liscia e lucente, radialmente fibrillosa. Velo scarso, visibile solo negli esemplari molto giovani, araneoso, bianco lasciante resti brunastri verso la meta' superiore del gambo nello adulto. Lamelle larghe e spesse, uncinato-adnate o annesse, a lungo di un bel giallo-zafferano vivo (effetto *Dermocybe*!), poi brunastro-ocracee con l'eta', taglio sempre piu' pallido. Gambo 2-4.5 x 0.8-1.5 cm nel bulbo, solido, fibroso, cilindrico a base sovente bulbosa (bulbo primordiale visible nel giovane !) e talora anche napiforme, mai marginato; rivestimento biancastro e liscio nel bulbo, altrove longitudinalmente fittamente striato, giallo vivo, alla manipolazione brunastro; radichette miceliari bianche. Carne soda, consistente, al taglio bianca o gialla nel gambo, piu' brunastra nel cappello, immutabile; odore e sapore molto deboli, practicamente assenti. Molto probabilmente non commestible.

Sporata bruno-ocracea.

Spore 7.5-9.7 x 4.5-5.7 µm, ocracee, a parete spessa, ellissoidi o allungate, sovente un poco sfinate nella parte superiore ma mai amigdaliformi, distintamente ma non pesantemente verrucose, apicolo marcato. Basidi 27-38 x 6.7-7.5µm, sempre 1-2 sporici, clavati, a sterigmi non allungati e non robusti. Subimenio filamentoso. Trama dell'imenoforo regolare, ad ife leggermente incrostate. Cistidi e cellule marginali assenti o non ben differenziati.



Cortinarius bisporiger spec. nov. 1) carpofori (x 1); 2) basidi (x 1000); 3) spore (x 1000). Designi di M. Contu.

Rivestimento pileico composto da una spessa ixocutis di ife cilindriche larghe 3-4.5 µm, con pigmento vacuolare; subcutis ad ife piu' larghe e con pigmento dello stesso tipo; trama ad ife con pigmento intraparietale. Caulocutis senza peculiarita' costituita da una cutis secca, banale. Giunti a fibbia presenti ovunque ma non costandi ai setti. Reazioni chimico-cromatiche: carne del gambo + NH_4OH = rosa carico - Melzer e KOH praticamente negativi.

Habitat: gregario e cespitoso negli impianti artificiali frangivento ad *Eucalyptus camaldulensis* della zona mediterranea, nel tardo Autunno. Raro ma ricorrente nella stazione individuata. Nello stesso habitat: *Agaricus pseudocretaceus* Bon, *Amanita gioisa* S. Curreli, *A. muscaria* (Linn.) Pers. s.l., *A. variabilis* S. Curreli, *Laccaria lateritia* Mal., *Lepiota latispora* (Kuhn. ex Wass.) Bon, *Lyophyllum decastes* (Fr.) Sing., *Tricholoma roseoacerbum* Riva, etc.

DISCUSSIONE

A causa del rivestimento pileico viscoso, il gambo secco e bulboso ma non marginato e la reazione della carne al rosa cupo con NH_4OH, *C. bisporiger* deve essere inserito nel sottogenere *Phlegmacium* (Fr.:Fr.) J.G. Trog, sezione *Fulvi* Moser & Horak ed e' molto simile ad alcune specie facenti parte del complesso afferente a *C. fulmineus* Fr. (fra le quali *C. subfulgens* P.D. Orton, *C. eufulmineus* R. Henry, etc.). Si riconosce agevolmente, oltre che per l'ecologia

assai peculiare, anche per i basidi sempre mono o bisporici, la assenza di cellule marginali, le spore medio-piccole e non superanti di regola 10μm e, dal punto di vista macromorfologico per la taglia sempre ridotta ed il gambo a profilo irregolare nella parte basale, sovente anche leggermente bulboso ma, in ogni caso, mai nettamente marginato. Il colore intenso delle lamelle evocherebbe quello posseduto da alcune *Dermocybe* (es.: *croceifolia*) ma queste specie possiedono una morfologia ben differente. Il carattere dei basidi costantemente bisporici sembra assai originale e prezioso per l'identificazione di *C. bisporiger:* esso si e' rivelato rimarchevolmente costante nelle raccolte esaminate e, pertanto, e' una peculiarita' di questa specie che, in conclusione, a nostro avviso, va considerata come genotipo bisporico e non come fenotipo di qualche altra entita' conosciuta.

CHIMIOTAXINOMIE DES BOLETS DE LA SECTION *LURIDI*

C. ANDARY[1], L. COSSON[1], M.J. BOURRIER[2], R. WYLDE[3] et A. HEITZ[3]

1- Laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie, Faculté de pharmacie, 34060 Montpellier.
2- Laboratoire Interrégional, Service de la Répression des Fraudes, 34000 Montpellier.
3- Centre CNRS - INSERM, Pharmacologie - Endocrinologie, Faculté de Pharmacie, 34060 Montpellier.

RÉSUMÉ - L'isolement de deux diastéréoisomères de l'acide 2-amino-4-hydroxypentanoique dont la structure a été vérifiée par RMN, permet de proposer la création de deux sous-sections *Luridus* et *Satanas*, homogènes, [redacted] sein de la section *Luridi* génératrice de nombreuses polémiques taxinomiques et toxicologiques.

ABSTRACT - Isolation and structural verification of two diastereomers of 2-amino-4-hydroxypentanoic acid allowed to propose the creation of two sub-sections *Luridus* and *Satanas*, in the *Luridi* section responsable of many nomenclatural and toxicologic discussions.

MOTS CLÉS : *Boletus*, section *Luridi*, sous-sections *Luridus* et *Satanas*, acide 2-amino-4-hydroxypentanoique, chimiotaxinomie.

Parmi les champignons supérieurs, les bolets occupent une place privilégiée en ce qui concerne leurs qualités gustatives.

Le "cèpe de Bordeaux" (*Boletus edulis* Bull.: Fr.) est l'espèce la plus connue et la plus recherchée. D'autres espèces cependant sont excellentes et appréciées des connaisseurs tels certains bolets à pores rouges pour la plupart, souvent bleuissants et classés dans la section *Luridi*. Nous citerons en particulier *B. erythropus* et *B. luridus*. Il faut toutefois les consommer à l'état cuit et être sûr de leur détermination. Celle-ci est justement fort délicate car les espèces de cette section sont très nombreuses et leurs caractères morphologiques voisins. Leur classification est controversée et leur comestibilité est de ce fait mal connue. Or dans cette section *Luridi* se trouvent les seuls bolets responsables d'intoxication, non mortelle certes, mais à l'origine des troubles digestifs les plus sévères, même cuits (Singer, 1986; Andary, 1987). Parmi ces dernières espèces, *B. satanas* est l'espèce la plus incriminée. A l'état cuit, elle ne semble cependant pas provoquer d'intoxication. Elle est reconnaissable à son chapeau très pâle presque blanc, pratiquement jamais taché de rose. Cependant, des formes moins typiques peuvent être à l'origine de confusions et d'intoxications.

Il est donc essentiel de disposer de marqueurs chimiques caractéristiques en vue d'assurer une identification rapide et sûre et d'établir une classification précise. Au cours d'une étude préliminaire, nous avions mis au point une

méthode d'analyse des acides aminés libres par chromatographie sur couche mince bidimensionnelle (CCM 2D) et leur dosage par chromatographie liquide à haute performance (CLHP) (Andary et al., 1988). Nous rapportons ici les résultats de l'analyse d'un certain nombre de taxons appartenant à la section *Luridi* ainsi que l'identification d'un acide aminé rare et non protéique présent dans certaines espèces sous la forme de deux stéréoisomères.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

Espèces étudiées et conditions chromatographiques

Tous les échantillons de bolets (correspondant à un échantillon représentatif du carpophore) ont été déshydratés à 45° et réduits en poudre pour l'analyse chimique. Les différents spécimens sont conservés dans l'herbier du laboratoire de Botanique, Phytochimie et Mycologie. (Tabl. I).

Les analyses des acides aminés libres par CCM et leur dosage par CLHP ont été réalisés selon la méthode déjà décrite (Andary et al., 1988).

• Les solvants utilisés sont les suivants:

- CCM 2D de cellulose
  S1: Butanol-acétone-diéthylamine-eau (10:10:2:5 v/v)
  S2: Isopropanol/acide formique/eau (40:2:10 v/v)
- CCM de gel de silice:
  S3: Chloroforme/méthanol/acide acétique/eau (65:24:4:4.5 v/v)
- Chromatographie sur colonne de cellulose:
  S4: Ethanol/propanol/eau (30:40:30 v/v)
  S5: Méthanol/acétone/ammoniaque/eau (10:10:0,5:5 v/v)
  S6: Méthanol/eau (90:10 v/v)
  S7: Ethanol/propanol/eau (40:40:40 v/v)
- Chromatographie sur colonne de gel de silice:
  S8: Chloroforme/méthanol/eau (65:25:4 v/v)

• La révélation après migration dans les solvants utilisés se fait par vaporisation d'un réactif polychromatique à la ninhydrine (Andary et al., 1988).

Obtention et purification des deux isomères X3 et X4

L'extraction et la purification sont effectuées selon le protocole précédemment publié à partir de 80 g de poudre de *B. pulchrotinctus*; ce qui nous a permis d'obtenir le "pool" des acides aminés libres du champignon. Ce "pool" concentré à sec et repris dans 5 ml de solvant S4 est chromatographié sur une première colonne de cellulose avec ce même solvant. La purification des composés X3 et X4 se fait par passages successifs sur des colonnes de cellulose et élution par des solvants appropriés (Fig. 1).

Analyse et structure de X3 et X4

• Les spectres de résonnance magnétique nucléaire (RMN) ont été réalisés à 360 MHz pour le ^{1}H et 90,53 MHz pour le ^{13}C (Appareil Bruker WM 360 WB). Les déplacements chimiques sont donnés en δ (ppm) avec comme étalon interne le TMS.

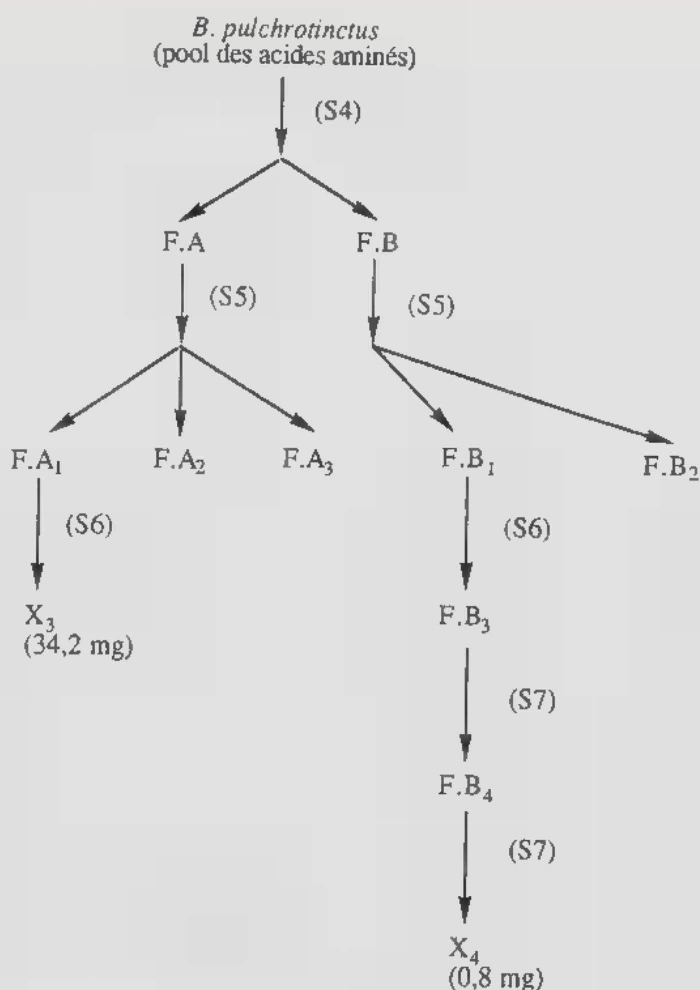


Figure 1: Schéma d'extraction et de purification des molécules X3 et X4 par chromatographie sur colonne de cellulose (S4...S7 = phases mobiles utilisées; F.A, F.B... = fractions collectées).

Figure 1: Extraction and purification diagram of X3 and X4 compounds by cellulose columns chromatography. (S4... S7 = mobil phases used; F.A, F.B... = collected fractions).

• Dégradation acide de X3

La dégradation acide de X3 se fait directement sur chromatoplaque de gel de silice en présence d'acide chlorhydrique 2N à 100°C.

Le composé obtenu nommé Y est révélé par vaporisation du réactif à la ninhydrine après migration dans le solvant S7. Ce composé Y est isolé par chromatographie sur une colonne de gel de silice et élution par S8.

ESPECES	N° D'HERBIER	LIEU DE RECOLTE	DATE DE RECOLTE
[redacted]. *dupainii* Boudier	AND 8309-1	Bédarieux (34)	13/09/1983
B. erythropus Pers.	RAP 8811-27	Aigoual (30)	01/11/1988
	AND 8709-14	La Bastide de Langogne (48)	13/09/1987
	BOU 8609-12	Valleraugue (30)	
B. junquilleus (Quél.) Boud.	COU 8110-01	Fline les Mortagne (59)	13/10/1981
B. legaliae (Pilat) ex Pilat [redacted] Dermek	RED 13411 P	Pouvrai (61)	1981
B. lupinus Fr.	RAP 8610-15	Nîmes (30)	02/10/1986
	BOU 8810-17	Pic St Loup (34)	24/10/1988
	BER 8510-19	Quissac (30)	29/10/1985
B. luridus Schaeff. : Fr.	AND 8811-23	Aigoual (30)	13/11/1988
	BER 8410-10	Bédarieux (34)	20/10/1984
	[redacted] 8510-18	Aigoual (30)	28/10/1985
B. luteocupreus Bertea et Estades	MAU 8811-22	Cazevieille (34)	01/11/1988
	AND 8709-12	Pyrénées Orientales (66)	13/09/1987
	GUI 8610-83G	Saulaie de Léognan La Brède (33)	11/10/1986
B. permagnificus Pöder	POD 8210-31	?	31/10/1982
B. pulchrotinctus Alessio	BER 8609-11	Quissac (30)	28/09/1986
	AND 8810-21	Montarnaud (34)	25/10/1988
	BER 8809-20	Quissac (30)	28/09/1988
[redacted]. *queletii* Schulz.	BOU 8810-24	Pic St Loup (34)	24/10/1988
	BER 8510-08	Quissac (30)	29/10/1985
B. rhodopurpureus Smotl.	AND 8707-26	Aigoual (30)	23/07/1987
	RED 14911 P	Bellon (16)	03/08/1983
B. rhodoxanthus (Krombh.) Kallenb.	BOU 8610-16	Cornus (12)	13/10/1986
	PRI 8810-28	Aigoual (30)	24/10/1988
B. rubrosanguineus (Walty) ex Cheype	RED 14171 P	Champagnole (39)	20/08/1982
B. satanas Lenz	RAP 8710-13	Pic St Loup (34)	26/10/1987
	CHE 8609-14	Montarnaud (34)	01/09/1986
	CHE 8610-18	Nîmes (30)	02/10/1986
B. torosus Fr.	BON 8110-03	Fline les Mortagne (59)	18/10/1981
	RED 183 P	Chizé (79)	05/08/1987

Tableau I: Espèces analysées (genre *Boletus*, section *Luridi*)

Table I: Analysed species (*Boletus*, *Luridi* section)

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Analyse des acides aminés libres

Par CCM 2D, nous avons pu identifier, à partir de 15 espèces appartenant toutes à la section *Luridi* 15 acides aminés libres usuels et distinguer 3 acides aminés que nous avons nommés X3, X4 et X5 et qui ne correspondaient à aucun des 35 acides aminés que nous pouvions identifier (Andary et al., 1988). X3 et X4 apparaissent chez certaines espèces seulement et X5 permet une distinction rapide entre *B. satanas* (ne contenant pas ce composé) et *B.*

pulchrotinctus, espèce de création récente, controversée par certains mycologues et contenant cette molécule X5. Toutefois les concentrations observées sont faibles et ce dernier produit n'a pas été identifié. Pour l'extraction et l'étude des molécules X3 et X4, notre choix s'est porté sur *B. pulchrotinctus* qui représentait une matière première abondante à notre disposition.

L'analyse par CLHP aboutit à l'identification et au dosage de 25 composés révélés par la ninhydrine (acides aminés et composés apparentés). Nous confirmons la présence de concentrations élevées d'alanine, d'acide glutamique, de glutamine et d'acide γ-aminobutyrique dans toutes les espèces étudiées. Le composé X3, pour les espèces qui en contiennent, correspond à la molécule la plus concentrée parmi celles révélées par la ninhydrine. Ainsi on trouve jusqu'à 6 mg/g environ de X3 pour *B. rhodoxanthus* alors que la glutamine et l'alanine sont respectivement de 3,48 et 2,9 mg/g pour le même champignon. X3 est toujours plus abondant que X4 (Tabl. II). Au cours de

Acides aminés libres et apparentés en mg/g de champignon sec	[redacted]. dupai.	B eryt.	[redacted]. lega.	[redacted] lupi.	[redacted] lun.	[redacted]. pulc.	[redacted]. quel.	B. rhod.	[redacted]. luteo	[redacted] rhox.	[redacted]. rubr.	B. [redacted].	B. toro.
Ac aspartique	-	0,234	0,090	0,182	0,368	0,086	0,068	0,104	0,066	0,418	0,078	0,444	0,086
Thréonine	0,226	0,398	0,196	0,458	0,932	0,238	0,238	0,034	0,096	0,716	0,256	0,438	0,064
Serine	0,508	0,814	0,244	0,864	2,376	0,578	0,388	0,142	0,186	1,438	0,486	0,534	0,186
Asparagine	0,502	-	-	-	-	-	0,248	-	-	-	-	-	-
Ac glutamique	0,904	1,016	1,080	1,120	2,000	0,648	0,962	0,206	0,376	1,928	1,016	2,802	0,058
Glutamine	0,754	1,816	0,382	0,474	4,810	0,586	0,338	0,276	0,320	3,480	-	2,370	-
X_3	-	-	1,638	1,482	-	3,344	-	-	-	6,518	2,892	5,268	-
X_4	-	-	1,318	0,550	-	0,306	-	-	-	1,206	0,876	2,994	-
Glycocolle	0,036	0,598	0,264	1,814	0,968	0,442	0,120	0,598	0,056	1,684	0,392	0,528	0,074
Alanine	1,054	1,714	0,820	1,640	3,618	1,904	1,022	1,714	0,678	2,966	0,786	2,556	0,516
Valine	0,114	0,242	0,062	0,230	0,344	0,110	0,140	0,242	0,020	0,288	0,156	0,240	-
Méthionine	-	0,022	-	-	-	0,020	0,010	0,022	0,016	-	-	-	-
Cysthationine	0,030	-	-	-	-	0,030	0,040	-	0,014	-	-	-	-
Isoleucine	0,024	-	0,036	0,108	-	-	0,070	-	0,020	0,104	0,060	0,264	0,018
Leucine	0,010	0,074	0,030	0,144	0,216	-	0,060	0,074	0,008	0,108	-	0,060	0,022
Tyrosine	0,014	-	-	-	0,208	-	0,118	-	-	0,210	-	-	-
β-alanine	0,028	-	-	-	-	-	0,044	-	-	-	-	-	-
Phénylalanine	-	0,102	-	-	-	-	0,058	0,102	-	-	-	-	-
Ac [redacted]-N-butyrique	-	-	-	-	-	-	0,128	-	-	-	-	-	-
Ac. γ- N-butyrique	0,704	1,388	0,906	0,516	2,282	1,016	0,664	1,532	1,154	1,138	3,668	1,812	0,162
Ammoniaque	0,186	0,124	1,126	0,176	0,578	0,210	0,278	0,008	0,176	0,386	1,244	0,612	0,708
Ornithine	0,308	0,408	0,202	0,402	0,280	0,638	0,060	0,058	0,116	1,424	0,162	0,528	0,160
Lysine	0,078	-	0,208	0,138	-	0,176	0,072	-	-	0,538	0,178	0,180	0,072
Histidine	0,022	-	0,030	-	-	0,022	0,056	-	0,030	0,212	-	0,102	-
Arginine	0,040	-	0,124	0,122	-	0,228	0,070	0,086	0,182	0,220	0,530	0,726	0,124
Total en mg/g Champ. [redacted]	5,542	8,950	8,756	10,420	18,980	10,582	5,272	5,208	3,514	24,982	12,780	22,458	2,250

* avec des traces de proline

dupai. : *dupainii* ; eryt. : *erythropus* ; lega. : *legaliae* ; lupi. : *lupinus* ; luri. : *luridus* ; pulc. : *pulchrotinctus* ; quel. : *queletii* ; rhod. : *rhodopurpureus* ; luteo. : *luteocupreus* ; rhox. : *rhodoxanthus* ; rubr. : *rubrosanguineus* ; sata. : *satanas* ; toro. : *torosus*.

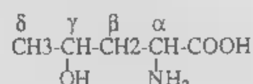
Tableau II: Dosage des acides aminés et apparentés libres (en mg/g de champignon sec) réalisé par C.L.H.P. chez des bolets de la section *Luridi*.

Table II: Concentration of free amino-acids and related compounds (in mg/g dried mushrooms) by HPLC in Boletes of *Luridi* section.

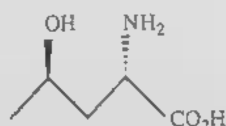
ces analyses, nous avons constaté que la concentration en acides aminés était plus élevée dans l'hyménophore que dans les autres organes (stipe et piléus).

Isolement et identification de X3 et X4

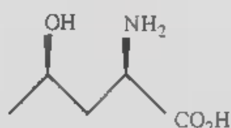
Nous avons obtenu au total 34,2 mg de X3 et 0,8 mg de X4. L'analyse des spectres de RMN a permis la détermination de la structure de ces deux composés (Tabl. III et IV). Ce sont deux diastéréoisomères de l'acide 2-amino-4-hydroxypentanoïque appelé également γ-hydroxynorvaline de formule brute: $C_5H_{11}NO_3$ et de formule développée:



Le composé X3 correspond à la forme thréo (2S, 4R)-(-)-2-amino-4-hydroxypentanoïque de formule:



X4 correspond à la forme erythro (2S, 4S)-(+)-2-amino-4-hydroxypentanoïque de formule:



Ces deux isomères avaient été isolés chez *B. satanas* par Matzinger et al. (1972) puis synthétisés par Harding et al. (1988). Par dégradation acide réalisée directement sur plaque de gel de silice nous obtenons, à partir de l'isomère (2S, 4R), un composé Y se colorant en jaune vif en présence du révélateur à base de ninhydrine. Puis cette couleur évolue au bout de quelques minutes vers le brun

^1H	X3	X4
Hα	3,49 (dd;4,4;6,3)	3,85 (dd;4,9;8,8)
Hβ	2,02 (m)	2,14 (ddd;15,1;3,4;4,9)
		1,83 (ddd;15,1;9,3;8,8)
Hγ	4,03 (qdd;4,4;6,0;8,3)	4,11 (qdd;3,4;6,0;9,3)
Hδ	1,27 (d;6,0)	1,28 (d;6,0)

Tableau III: Spectre de RMN ^1H (ppm) de X_3 et X_4 dissous dans le DMSO-d_6. Les déplacements chimiques et les valeurs de *J* sont données entre parenthèses.

Table III: ^1H NMR spectra (pbm) of X3 and X4 dissolved in DMSO-d_6. Chemical shifts and *J* values are in parentheses.

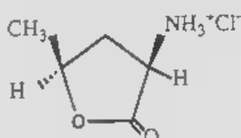
^{13}C	X3
C α	51,0
C β	35,5
C γ	63,0
C δ	20,5
C '	172,4

Tableau IV: Spectres de RMN ^{13}C (ppm) de X_3 dissous dans le DMSO-d_6.

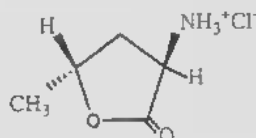
Table IV: ^{13}C NMR spectra (pbm) of X_3 dissolved in DMSO-d_6.

violacé. Les deux isomères (2S, 4R) et (2S, 4S) se dégradent totalement au bout de 15 mn de chauffage. Le dérivé Y possède les mêmes caractéristiques physico-chimiques que la lactone isolée par Matzinger et al. (1972).

Une dégradation des deux diastéréoisomères en milieu liquide est également réalisée à 37°C en milieu HCl 0,01N (pH 2) dans le but de reproduire des conditions analogues à celles de l'estomac. Dans ces conditions, l'hydrolyse débute après 15 mn. Au cours de cette dégradation acide, il se produit une cyclodéhydratation de la molécule donnant un chlorhydrate d'amine sous la forme de dérivés cis et trans de formules suivantes:



Dérivé cis obtenu par cyclodéhydratation du composé thréo (2S, 4R)(=Y)



Dérivé trans obtenu par cyclodéhydratation du composé erythro (2S, 4S)

Activité de l'acide 2-amino-4-hydroxypentanoïque

a) Rôle toxique?

La consommation de deux carpophores et demi de *B. pulchrotinctus* (parfaitement déterminés) a nécessité l'hospitalisation pendant une nuit de la personne concernée. Ces champignons avaient été cuits à l'eau, pendant 15 à 20 mn; cette eau avait été rejetée. Trois heures environ après le repas (pris à 20h30), cette personne a présenté des nausées et vomissements importants, des tremblements et des sueurs froides, suivis de diarrhées le lendemain. Le rétablissement nécessita environ 48 heures (Andary, 1987).

Nous avons eu la possibilité de tester l'éventuelle toxicité des molécules isolées vis-à-vis de lymphocytes humains *in vitro* (travail réalisé au Laboratoire d'Immunologie cellulaire, Hopital St Eloi, Montpellier). Aucune toxicité n'a été mise en évidence pour cet acide ou sa lactone par rapport aux contrôles et ceci pour des dilutions allant de 10^{-2} à 10^{-7} M. Cependant, une absence de

cytotoxicité vis-à-vis des lymphocytes humains n'exclut pas un pouvoir toxique vis-à-vis d'autres cellules. Le rôle de ces acides aminés non protéiques, isolés à partir de plantes supérieures ou de champignons, est peu connu. Certains sont des précurseurs dans la synthèse d'acides aminés essentiels (Bell, 1980) , d'autres ont des propriétés antimétaboliques (Hatanaka et al., 1985).

On connait effectivement des acides aminés non protéiques toxiques chez certaines amanites tels l'acide L-2-amino-4,5-hexadienoïque et l'acide L-2-amino-4-pentynoïque antimétaboliques et hépatotoxiques. Ces molécules furent isolées de carpophores d'*Amanita solitaria* (Fr.) Secr. (combinaison valide: *A. strobiliformis* (Vitt.) Bertillon), *A. abrupta* Peck, *A. pseudoporphyria* Hongo et *A. neoovoidea* Hongo (Chilton & Ott, 1976; Hatanaka & Kawasaki , 1980; Hatanaka et al. 1985; Yamaura et al., 1986).

La présence d'acides aminés très souvent hydroxylés constitutifs de polypeptides toxiques tels que les amanitines et les phalloïdines est à signaler. C'est le cas de l'acide (2S, 3R, 4S)-2-amino-3-méthyl-4-hydroxyvalérique constitutif de la γ-amanitine ainsi que de l'acide (2S, 4R)-2-amino-3-méthyl-4,5-dihydroxyvalérique intervenant dans la structure des ■ et *β* amanitines (Gieren et al., 1974). La perte du groupement hydroxylé de l'hydroxyleucine chez les amanitines et de celui de l'hydroxyproline chez la phalloïne diminue fortement la toxicité de ces molécules (Wieland & Faulstich, 1978).

On trouve également un acide aminé insaturé: la vinylglycine chez *Entoloma nidorosum* (Fr.) Quél. considéré comme suspect (Dardenne et al., 1974), ainsi que chez *E. lividum* (Bull.) Quél. fortement toxique. La responsabilité de cet acide aminé dans la toxicité n'a pas été prouvée.

Le rôle de l'acide L-2-amino-4-méthyl-hex-5-enoïque isolé à partir d'un bolet de Nouvelle-Guinée (Gellert et al., 1973), présumé responsable de troubles hallucinogènes, n'a pas été non plus étudié.

b) Valeur chimiotaxinomique

Nous avons recherché, d'une façon systématique et selon les échantillons disponibles, la présence de ces isomères de l'acide 2-amino-4-hydroxypentanoïque chez le maximum d'espèces. Nous avons utilisé les premiers travaux réalisés (Andary et al., 1988) en les complétant par l'étude de nouvelles espèces (Cosson, 1989). Sur les 26 taxons analysés, appartenant à différents genres chez les Bolétales, nous retrouvons les isomères thréo et érythro uniquement dans un groupe d'espèces homogènes et appartenant toutes à la section *Luridi* (Tabl. V).

Cette constatation est très intéressante car les espèces citées contenant ces composés correspondent exactement aux espèces toxiques ou suspectes parmi les bolets. Nous pouvons supposer que ces deux acides aminés jouent un rôle dans les désordres gastro-intestinaux parfois assez graves entraînés par l'ingestion de ces champignons. Or, les espèces de cette section, longtemps mal connues parce que irrégulièrement réparties en Europe, semblent être mieux comprises actuellement. L'analyse des acides aminés de ces champignons par CCM 2D et par CLHP nous permet d'être plus précis dans l'étude taxinomique de ces espèces.

Ainsi, *B. rubrosanguineus* (Walty) ex Cheype a été synonymisé à *B. rhodopurpureus* Smotlacha par Charbonnel (1980) et Engel (1983). Par la suite, en 1991, Alessio réhabilite *B. rubrosanguineus* comme espèce à part entière. Nous pouvons confirmer cette distinction car les exemplaires de *B.*

GENRE	SECTION	ESPECE	X3	X4
	Appendiculati	appendiculatus	-	-
	Boletus	edulis	-	-
	Calopodes	calopus	-	-
		albidus	-	-
		dupainii	-	-
		erythropus	-	-
		jonquilleus	-	-
		legaliae	+	+
Boletus		lupinus	+	+
		luridus	-	-
		luteocupreus	-	-
	Luridi	permagnificus	-	-
		pulchrotinctus	+	+
		queletii	-	-
		rhodopurpureus	-	-
		rhodoxantus	+	+
		rubrosanguineus	+	+
		satanas	+	+
		torosus	-	-
Boletinus		cavipes	-	-
Krombholziella	Scabrae	duriusculus	-	-
	Suilli	collinitus	-	-
Suillus		luteus	-	-
	Fungosi	variegatus	-	-
		bovinus	-	-
Xerocomus		chrysenteron	-	-

Tableau V: Recherche des acides aminés X_3 et X_4 chez différentes espèces de bolets.
Table V: Amino-acids X_3 and X_4 research in varied species of Boletes.

rhodopurpureus analysés ne contiennent pas X3 et X4 alors que ces deux isomères sont présents chez *B. rubrosanguineus*. Ce fait est en accord avec l'avis de Cheype (1982) et Redeuilh (1988).

Pour ce dernier, *B. rubrosanguineus* correspond en fait à un taxon nommé B, issu de *B. splendidus* Martin, espèce des montagnes. L'autre taxon A, espèce de la plaine sous feuillus, correspond toujours pour Redeuilh (1988) à *B. legaliae* (Pilát) ex Pilát et Dermek . Ceci est en accord avec l'analyse chimique car nous avons retrouvé X3 et X4 dans *B. legaliae* également.

Charbonnel (1981) rassemble trois espèces dans le groupe *rhodoxanthus*: "*B. purpureus* Fr. *sens.* Romagnesi; *B. rhodoxanthus* Kall. et *B. rhodopurpureus* Smotl.". Il synonymise "*B. purpureus* Fr. *sens.* Romagnesi à *B. lupinus* Fr. *sens.* Bresadola, *B. legaliae* Pilát et Dermek et *B. satanoides* Smotl.". Ce regroupement et ces synonymies sont en désaccord avec nos résultats car *B. rhodoxanthus* est très distinctement séparé par la présence de X3 et X4, absents chez *B. rhodopurpureus* et *B. luteocupreus* (= *B. purpureus pro parte*) (Bertea & Estades, 1990).

Il est admis actuellement (P. Bertea communication personnelle) que le nom de *purpureus* a été cité dans des sens très différents par de nombreux auteurs et, en l'absence d'un contexte descriptif suffisamment discriminant, il ne devrait plus être utilisé.

B. rhodoxanthus, qui possède X3 et X4, est peu controversé. Seul Bon (1988) en fait une variété de *B. rhodopurpureus* Smotl., ce qui nous semble peu probable puisque ce dernier ne contient pas les marqueurs X3 et X4.

Alessio (1985) distingue deux grands groupes dans la section *Luridi*: le groupe **a** à réseau marqué et le groupe **b** n'ayant pas de réseau net.

Le groupe **a** est divisé en un sous-groupe **a1** comprenant des espèces à chapeau de coloration marquée: de jaune vif à brun rouge. Le sous-groupe **a2** regroupe des espèces à chapeau beaucoup plus clair, ne s'assombrissant qu'après le stade de maturité.

On retrouve dans ce sous-groupe **a2**: "*B. rhodoxanthus* (Krombh.) Kall., *B. splendidus* Martin, *B. pulchrotinctus* Alessio et *B. satanas* Lenz" qui correspondent aux espèces contenant X3 et X4. Alessio ne reconnait pas *B. legaliae* car il l'inclut dans la synonymie de *B. splendidus* (mais nous avons vu que l'analyse chimique confirme les conclusions récentes de Redeuilh (1988) à ce sujet). Il ne manque dans ce sous-groupe **a2** que *B. lupinus* classé par Alessio dans le groupe **b**.

La solution proposée par Bon (1988) est intéressante à ce sujet. Ce dernier constitue deux sections:

section *Luridi* comprenant: "*B. luridus* Schaeff.: Fr., *B. erythropus* Pers. : Fr., *B. dupainii* Boud., *B. queletii* Schulz.;"

section *Purpurei* regroupant: "*B. rhodopurpureus* Smot., *B. legaliae* Pil., *B. rhodoxanthus* (Krb.) ex Kallenb., *B. lupinus* Fr., et *B. satanas* Lenz".

B. lupinus se retrouve donc dans la même section que *B. satanas* et *B. legaliae*, ce qui est en accord avec nos résultats biochimiques.

Enfin le découpage préconisé par Cheype (1982) est également à retenir. Il distingue d'une part:

"*B. torosus* (Fr.), *B. xanthocyaneus* (Ramain) Romagn. et *B. rhodopurpureus* Smotl. (= *B. purpureus* (Fr.) *sens.* Pellereau)";

d'autre part:

"*B. satanoides* Smotl. (= *B. legaliae* (Pilát) = *B. lupinus sens.* Bres.), *B. rhodoxanthus* (Krombh.) et *B. rubrosanguineus* (Walty)". Nous avons pu vérifier que seul le deuxième groupe contient X3 et X4.

Ainsi, la synthèse de toutes ces constatations, de ces classements et notre analyse chimique dans la section *Luridi* nous a amené à proposer dans cette section deux sous-sections, que nous avons appelées *Luridus* et *Satanas* (Tabl. VI). Cette dernière comprend les espèces caractérisées chimiquement par la présence de X3 et X4 et correspondent aux espèces toxiques. Il est intéressant de noter que ces conclusions rejoignent totalement les conceptions taxinomiques actuelles de la plupart des spécialistes des bolets.

SOUS-SECTION *LURIDUS*	SOUS-SECTION *SATANAS*
B. dupainii Boudier	*B. legaliae* (Pilát) ex Pilát et Dermek
B. erythropus Pers.	*B. lupinus* Fr.
B. junquilleus (Quél.) Boud.	*B. pulchrotinctus* Alessio
■. *luridus* Schaeff.: Fr.	*B. rhodoxanthus* (Krombh.) Kallenb.
B. luteocupreus Bertea et Estades	*B. rubrosanguineus* (Walty) ex Cheype
B. permagnificus Pöder	*B. satanas* Lenz
B. queletii Schulz.	
B. rhodopurpureus Smotl.	
B. torosus Fr.	

Tableau VI: Nouvelles sous-sections de la section *Luridi*.

Table VI: New sub-sections of *Luridi* section.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier Mme M. Andary pour les tests de toxicité lymphocytaire, ainsi que MM M. Bon, G. Chevassut, J.L. Cheype, R. Courtecuisse, J. Guinberteau, R. Pöder et G. Redeuilh qui ont eu l'amabilité de nous fournir des exsiccata. Nous remercions tout particulièrement P. Bertea pour ses conseils pertinents et la relecture du mémoire.

BIBLIOGRAPHIE

ALESSIO C. L., 1985 - *Boletus* Dill. ex L. Saronno, Biella Giovanna, *Fungi Europaei* 2: 712 p.

ALESSIO C.L., 1991 - *Boletus* (suppléments). Saronno, Biella Giovanna, *Fungi Europaei* 2a: 126 p.

ANDARY C., 1987 - Cas d'intoxication par *B. pulchrotinctus*. Hospitalisation de P.D. Centre Anti-poisons de Montpellier (Dr. Passeron, service de réanimation).

ANDARY C., BOURRIER M.J. et HAUPERT R., 1988 - Rôle des polyols et des acides aminés dans la différenciation des Bolets. *Cryptogamie, Mycol.* 9: 277-288.

BELL E.A., 1980 - Non protein amino-acids in plants. *In:* D. H. Heg. et D. J. John, *International review of science, organic chemistry*. London, Butterworths, serie 1, 6: 1-16.

BERTEA P. et ESTADES A., 1990 - *Boletus luteocupreus*. *Bull. Féd. Mycol. Dauphiné -Savoie* 118: 25-31.

BON M., 1988 - *Champignons d'Europe occidentale*. Arthaud, 368 p.

CHARBONNEL J., 1980 - Les Bolets du groupe *purpureus*. *Soc. Mycol. Rém.* 1: 13-17.

CHARBONNEL J., 1981 - Les Bolets du groupe *purpureus*. *Soc. Mycol. Rém.* 2: 16-24.

CHEYPE J.L., 1982 - Bolets du groupe *purpureus*: clé analytique provisoire. *Bull. Féd. Mycol. Dauphiné-Savoie* 84: 12-24.

CHILTON WS. and OTT J., 1976 - Toxic metabolites of *Amanita pantherina, A. cothurnata, A. muscaria* and other *Amanita* species. *Lloydia* 39: 150-156.

COSSON L., 1989 - Etude de marqueurs spécifiques du genre *Boletus*, section *Luridi*. Isolement et identification. DEA Sciences des aliments, nutrition, fermentation, Univ. Montpellier I, 58 p.

DARDENNE G., CASIMIR J., MARLIER M. et LARSEN P.O., 1974 - Acide 2 (R)-amino-3-butenoique (vinylglycine) dans les carpophores de *Rhodophyllus nidorosus*. *Phytochemistry* 13: 1897-1900.

ENGEL H., KRIEGLSTEINER G.J., DERMEK A. und WATLING R., 1983 - Dickröhrlinge. Die gattung *Boletus* in Europa: Engel Heinz, Schneider-Druck, Weidhausen, 157 p.

GELLERT E., HALPERN B. and RUDZATS R., 1973 - Amino acids and steroids of a New Guinea *Boletus*. *Phytochemistry* 12: 689-692.

GIEREN A., NARAYANAN P., HOPPE W., HASAN M., MICHL K., WIELAND Th., SMITH H., JUNG G. und BREITMAIER E., 1974 - Die Konfiguration der hydroxylierten Isoleucine der Amatoxine. *Liebigs Ann. Chem.* 44: 1561-1569.

HARDING K.E., MARMAN T.H. and NAM D.K. 1988 - Stereoselective synthesis of (±) erythro and threo γ-hydroxynorvaline. *Tetrahedron Lett.* 29: 1627-1630.

HATANAKA S.I. and KAWAKAMI K., 1980 - Biochemical studies on nitrogen compounds of fungi. XIX - Isolation and identification of L-2-Amino-4, 5-hexadienoic acid from *A. neoovoidea* Hongo. *Sci. Pap. Coll. Gen. Educ.* Univ. Tokyo 30: 147-150.

HATANAKA S.I., NIIMURA Y. and TAKISHIMA K., 1985 - Non-protein amino-acids of unsaturated norleucine-type in *Amanita pseudoporphyria*. *Trans. Mycol. Soc. Japan* 26: 61-68.

MATZINGER P., CATAFOLMO Ph. et EUGSTER C.H., 1972 - Isolierung von (2S, 4S)-(−)-γ hydroxynorvalin und (2S, 4S)-(-)-γ hydroxynorvalin aus *Boletus satanas* Lenz. *Helv. Chim. Acta* 55: 1478-1490.

REDEUILH G. , 1988 - Etude nomenclaturale sur les bolets. II - Critique nomenclaturale des noms de bolets in "*Boletus*" (Fungi Europaei) par C.L. Alessio, Saronno 1985. *Doc. Mycol.* 18 (72): 28-39.

SINGER R., 1986 - The Agaricales in Modern taxonomy, 4ème éd., Koenigstein, Koeltz Scientific Books, 981 p.

WIELAND T. and FAULSTICH H., 1978 - Amatoxines, phallotoxines, phallolysine and antamanide: the biologically active components of poisonous *Amanita* mushrooms. *CRC, Crit. Rev. Biochem.* 5: 185-260.

YAMAURA Y., FUKUHARA M., TAKABATAKE E., ITO N. and HASHIMOTO T., 1986 - Hepatotoxic action of ■ poisoning mushroom, *Amanita abrupta* in mice and its toxic component. *Toxicology* 38: 161-173.

THREE INTERESTING NEW HYPHOMYCETES FROM SOUTH EAST ASIA

C.V. SUBRAMANIAN

Central Institute of Medicinal and Aromatic Plants, Post Bag No.1, P.O. RSM Nagar, Lucknow-226016, India.

ABSTRACT - This paper deals with the description and taxonomy of three interesting new dematiaceous hyphomycetes from southeast Asia, and is part of the author's continuing work on tropical microfungi. Of these, *Dwibeeja sundara* gen. et sp. nov., occurring on a variety of substrates and collected in Singapore, ■ unique in producing robust, dark-opaque synnemata with many simple conidiogenous cells and acrogenous chains of twin one-celled, brown conidia, the first one in the chain gangliar and the second one blastic. The two other hyphomycetes were both collected on *Smilax* sp. from Malaysia and are unique in producing solitary, gangliar, euseptate conidia, each with a characteristic cap, acrogenously on simple conidiophores and their successive, percurrent lageniform proliferations. Both conidiogenesis and morphology of the conidium appear to be unique in these fungi. These two fungi are clearly congeneric and are accomodated in ■ new genus, *Javonarxia*, as two new species, *J. triseptata* (Type species) and *J. quadriseptata:* the conidia of the former are 3-septate, of the latter 4-septate.

RÉSUMÉ - Description et taxonomie de 3 nouveaux Hyphomycètes dématiés récoltés dans le Sud Est asiatique.

Le premier, *Dwibeeja sundara* gen. sp. nov., rencontré sur plusieurs substrats et récolté à Singapour, produit des synnemas sombres avec de nombreuses cellules conidiogènes et des chaînes acrogènes de conidies unicellulaires jumelles, brunes, la première étant une gangliospore et la seconde une blastospore.

Les deux autres ont été récoltées sur *Smilax* en Malaisie et sont originaux par la production de gangliospores solitaires cloisonnées avec une coiffe caractéristique, acrogène sur des conidiophores simples à proliférations percurrentes successives, lagéniformes. La conidiogenèse et la morphologie des conidies sont particulières et autorisent à regrouper ces champignons dans un genre nouveau: *Javonarxia* avec deux espèces: *J. triseptata* (espèce type) à conidies triseptées et *J. quadriseptata* à conidies quadriseptées.

KEY WORDS : Hyphomycetes, *Dwibeeja, Javonarxia*, southeast Asia.

During the period of the author's stay in Singapore as Visiting Professor in the National University of Singapore during 1986-87, the author made numerous collections of microfungi from Singapore, and some collections from Malaysia and Indonesia. These southeast Asian collections include several interesting or new taxa and the study of these forms part of the author's continuing work on tropical microfungi. In this paper three interesting new hyphomycetes are described and their taxonomy is discussed.

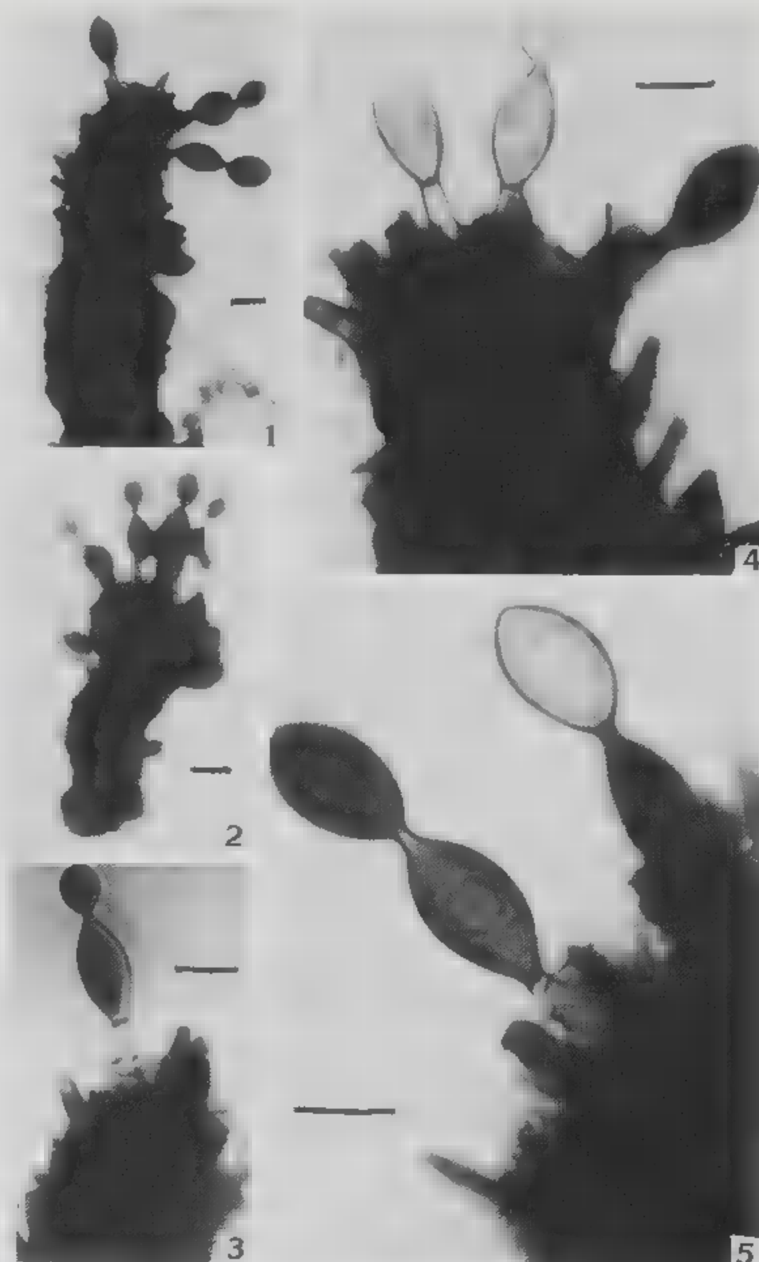


Fig. 1-5: *Dwibeeja sundara*. 1, 2: synnemata (? stroma) with projecting conidiogenous cells and chains of twin conidia. 3: a conidiogenous cell with the first formed gangliar conidium and second conidium developing blastically from the tip of the first conidium. 4-5: conidiogenous cells and chains of twin conidia in various stages of development. Note guttules within conidia in fig. 5. Fig. 1-4: ex Type specimen, S57; Fig. 5: ex S 24. Bar connotes 10μm.

1. *DWIBEEJA SUNDARA* gen et sp. nov.

This interesting hyphomycete was collected on dead bark of *Calophyllum inophyllum* and other substrates from Singapore and is described below.

The fungus is easily recognizable by the numerous, or often not so numerous, or even sparse, synnemata that are mostly scattered or sometimes gregarious on the substrate. The synnemata are stout, thick, dark-opaque, fertile along the length (all around) and at the apex, up to 250 μm tall, and 28-40 (64)μm wide (Fig. 1-2). The conidiogenous cells which project from the body of the synnema all along, and around the tip, are simple, short, brown, up to 20μm long, 2-5μm wide at the tip and 3-7μm wide at the base (Fig. 3). The conidia are borne typically in simple acropetal chains of two conidia on each conidiogenous cell acrogenously, one-celled, coffee-brown in colour, thick-walled, smooth and dry (Fig. 4-5). The first (i.e. primary) conidium is gangliar, acrogenous, broadly fusiform, narrowed to a somewhat mamillate part at each end, and 14-21 x 6-11 μm. The second (i.e. secondary) conidium is produced blastically from the tip of the first (gangliar) conidium and is ovoid, invariably shorter than the first conidium, slightly narrowed to a mamillate tip, narrowed at the base where it is attached to the first conidium, and 10-15 X 7-9μm. The conidia are often detached with part of the conidiogenous cell, and may remain in pairs or fall apart. Young conidia are paler in colour than the older ones and often show a guttule or two within.

The occurrence of chains of twin conidia with the primary conidium gangliar in origin, and the second blastic, recalls the situation in the genus *Padixonia* Subram. as typified by *P. bispora* Subram. (Subramanian, 1972). Dixon (1985) has shown that the primary conidium is holoblastic, but the second one in the chain is enteroblastic. The tandem pair of conidia secedes as a unit. However, the present fungus is quite distinct in forming conspicuous synnemata. Also, the conidiogenous cells are simple, short and tubular, unlike those of *Padixonia*. Chains of twin conidia are also found typically in *Beejadwaya bispora* (Matsushima) Subram. (Subramanian, 1977), but here both conidia are blastic and there are, of course, no synnemata. Since there is apparently no suitable genus in which the present fungus can be accommodated, a new genus, *Dwibeeja* is proposed here for it. The generic name is from Sanskrit: *dwi* = two, *beeja* = seed, spore, from the pairs of conidia that are typical. The specific epithet is also from Sanskrit: *sundara* = beautiful.

DWIBEEJA Subramanian anamorph gen. nov.

Dematiaceous hyphomycete. Synnemata simple, fertile all over the surface. Conidiogenous cells simple, short, cylindrical to subcylindrical, brown. Conidia acrogenous, in acropetal chains of two each, brown, one-celled, dry. First conidium gangliar, second conidium blastic.

Fig. 1-5: *Dwibeeja sundara.* 1, 2: synnema avec cellules conidiogènes orientées vers l'extérieur et chaînes de conidies jumelles. 3: cellule conidiogène avec une première ganglioconidie et une seconde qui se développe de façon blastique au sommet de la première. 4-5: cellules conidiogènes et chaînes de conidies jumelles à divers stades de développement. En 5 on notera les guttules à l'intérieur de la conidie. Fig. 1-4: espèce type S57; Fig. 5 ex S24. Echelle = 10μm.

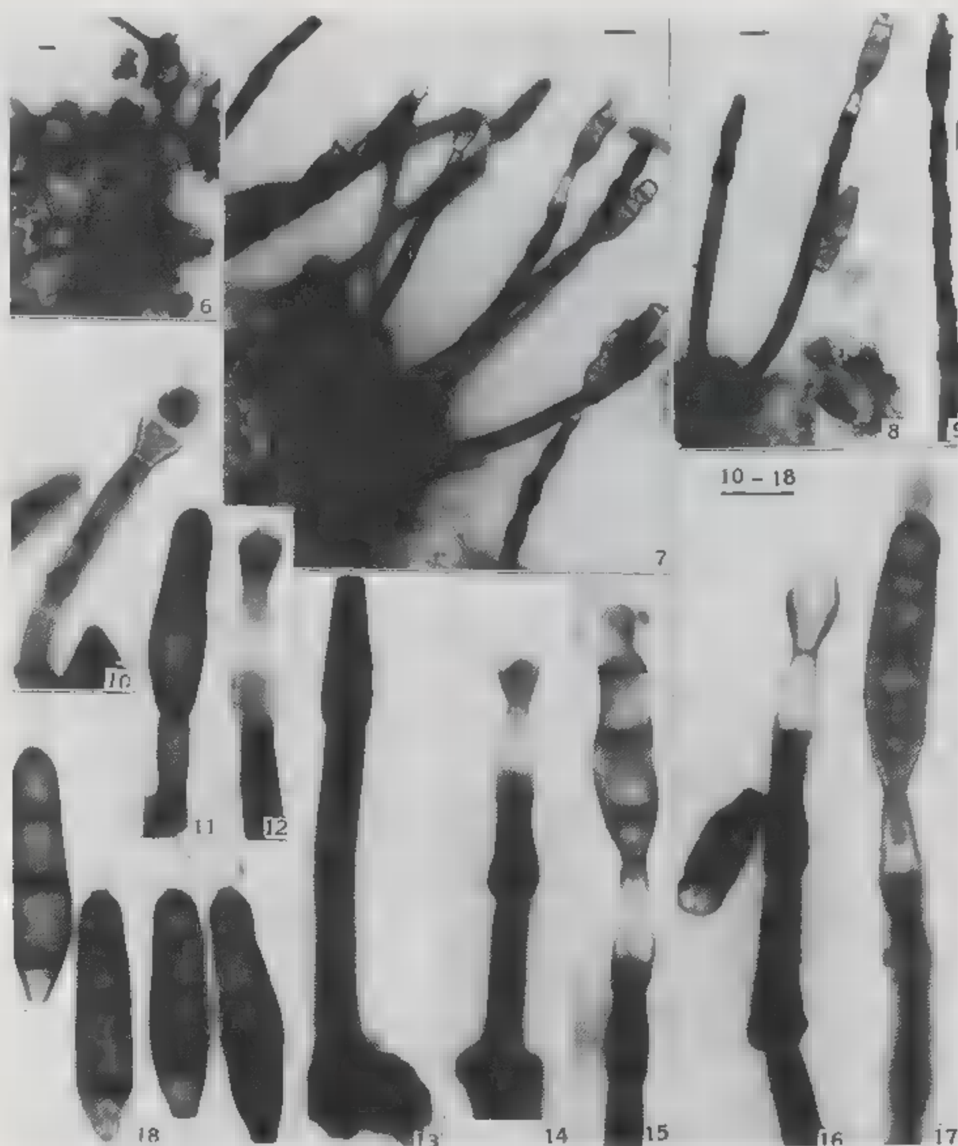


Fig. 6-18: *Javonarxia triseptata* ex Type S 118. 6: hyphae and conidiophore. Note the fungus overgrows hyphopodiate mycelium. 7-8: cluster of simple conidiophores with solitary acrogenous phragmoconidia in various stages of development . 9: a conidiophore showing several lageniform proliferations and an acrogenous solitary phragmoconidium with apical cap. 10-11: stages in development of first conidium; 12-17: various stages in the development of secondary conidia subtended by characteristic lageniform cell. Note the continuity of the outer wall (layer) of conidium and subtending cell and its origin external to the dark-coloured proliferation below in figs. 12, and 14-17. Note also apical cap of mature conidium attached to conidiophore in fig. 17. Fig. 18: mature phragmoconidia. Note apical cap. Bar connotes 10μm.

Hyphomycete dematiaceae. Synnemata simplicia, undique fertilis. Cellulae conidiogenae simplicia, brevia, cylindrica vel subcylindrica, brunnea. Conidia acrogena, binatim catenata acropeta, unicellula, brunnea, sicca. Conidium prima ganglica, secunda blastica.

Species typica: Dwibeeja sundara Subramanian.

DWIBEEJA SUNDARA **Subramanian sp. nov.**

Synnemata robust, dark-opaque, simple, fertile all over, up to 250µm tall, 28-40 (-64)µm wide. Conidiogenous cells short, cylindrical, brown, up to 20µm long, 2-5µm wide at the tip, 3-7µm wide at the base. Conidia acrogenous, typically in simple acropetal chains of two conidia on each conidiogenous cell, one-celled, coffee-brown in colour, thick-walled, smooth, dry. First conidium gangliar, fusiform, mamillate at base and at the apex, 14-21 x 6-11µm. Second conidium blastic, ovoid, mamillate at the apex, 10-15 x 7-9µm.

Type: on dead bark of *Calophyllum inophyllum* Linn. (Guttiferae), Botanical Garden, Singapore, Coll. C.V. Subramanian, 19.ii.1987 (No. S 57).

Synnemata robusta, atro-opaca, simplicia, undique fertilis, usque ad 250µm alta, 28-40 (-64)µm crassa. Cellulae conidiogenae brevia, cylindrica, brunnea, usque ad 20µm longa, 2-5µm lata ad apicem, 3-7µm lata ad basim. Conidia acrogena, binatim catenata acropeta, unicellula, brunnea, sicca. Conidium prima ganglica, fusiformia, mamillata ad basim vel apicem, 14-21 x 6-11µm. Conidia secunda blastica, ovoidea, mamillata ad apicem, 10-15 x 7-9µm.

Typus lectus in corticis emortuis Calophylli inophylli, hortus botanicus, Singapore, leg. C.V. Subramanian, 19.ii.1987, sub numero S 57.

Other collections:

1. on dead bark of *Palaquium obovatum* (Griff.) Engl. (Sapotaceae) Botanical Garden, Singapore, Coll. C.V. Subramanian (S 24), 12.ii.1987.
2. on dead bark of *Prunus polystachyus* (Hook. f.) Kalkm. (Rosaceae), McRitchie Forest, Singapore, Coll. C.V. Subramanian (S. 83), 21.iii. 1987.
3. on dead bark of *Prunus polystachyus*, McRitchie Forest, Singapore, Coll. C.V. Subramanian (S 179), 18.iii. 1987.
4. on dead bark of *Alstonia angustifolia* Wall. (Apocynaceae), Mc Ritchie Forest, Singapore, Coll. C.V. Subramanian (S 164), 18.iii.1987.

Fig. 6-18: *Javonarxia triseptata* ex type S118. 6: Hyphes et conidiophores. On notera que le champignon pousse à partir d'un mycélium à hyphopodies. 7-8: bouquet de conidiophores simples avec des phragmoconidies acrogènes solitaires à divers stades de développement. 9: conidiophores montrant plusieurs prolifèrations lagéniformes et une phragmoconidie solitaire, acrogène, avec une coiffe apicale. 10-11: stades de développement de la première conidie. 12-17: divers stades de développement de conidies secondaires supportées par une cellule lagéniforme caractéristique. On notera la continuité de la couche externe de la paroi de la conidie et de la cellule sous-jacente et sa position externe par rapport à la prolifération sombre située en dessous sur les figures 12 et 14-17. On notera aussi la coiffe apicale d'une conidie mûre encore attachée au conodiophore sur la fig. 17; Fig. 18: phragmoconidie mûre avec coiffe apicale. Echelle = 10µm.

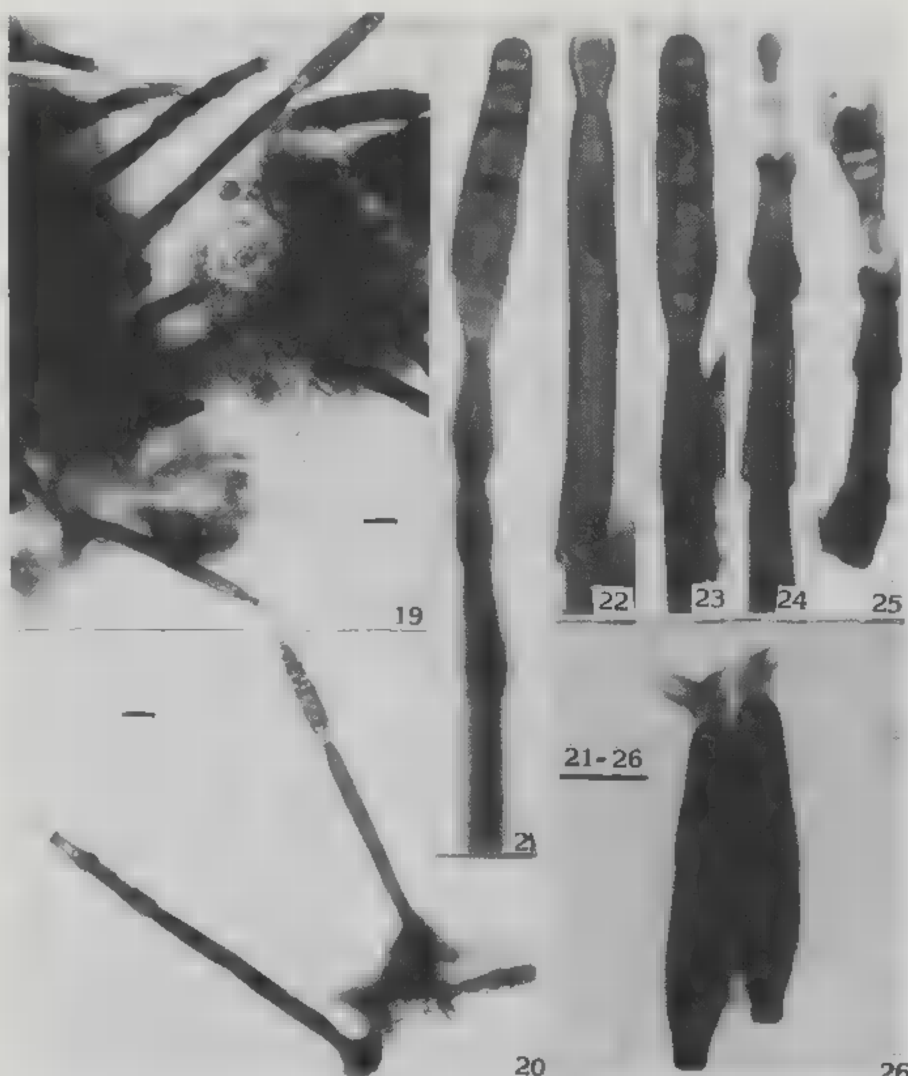


Fig. 19-26: *Javonarxia quadriseptata* ex type S 120d. 19-20: general view of mycelium, conidiophores and conidia. Note in fig. 20 conidiophore on the right with the first conidium still attached and the conidiophore on the left with 3 proliferations and a conidium with a subtending lageniform cell developing apically. 21: part of conidiophore with 3 proliferations and a mature phragmoconidium still attached. 22: early stage in development of first conidium. 23: mature first conidium with cap, still attached to conidiophore. 24, 25: stages in development of conidia on conidiophore with 2 and 1 proliferations, respectively. 26: two conidia showing emergence of germ tubes ex the apical cap of the conidium. Bar connotes 10μm.

Fig. 19-26: *Javonarxia quadriseptata* ex type S120d. 19-20: vue générale des mycélium, conidiophores et conidies. On notera sur la figure 20, à droite, un conidiophore avec la première conidie encore attachée, à gauche un conidiophore avec trois proliférations et une conidie avec cellule sous-jacente lagéniforme. 21: partie du conidiophore avec trois proliférations, une phragmoconidie mûre encore attachée. 22: stade précoce de développement d'une première conidie. 23: première conidie mûre avec coiffe, encore attachée au conidiophore. 24-25: développement de conidies sur conidiophores avec respectivement 2 et 1 proliférations. 26: conidies montrant la sortie d'un tube germinatif à partir de la coiffe apicale. Echelle: 10 μm.

2. *JAVONARXIA TRISEPTATA* gen. et sp. nov. and 3. *J. QUADRISEPTATA* sp. nov.

Two interesting hyphomycetes, distinct, but clearly congeneric, were collected from Malaysia, both peculiarly on twigs of *Smilax* sp. and are described below.

The first of these is based on a collection on twigs of *Smilax* sp., from Cameroon Highlands (S 118). The fungus is apparently hyper-parasitic or overgrows epiphytic hyphopodiate mycelium of other fungi on the substrate (Fig. 6). The fungus is easily recognized by its conspicuous conidiophores: these are erect, mostly straight, simple, cylindrical, thick-walled, dark brown, septate, each sometimes arising from a flattened radially lobed basal cell or foot 15-18μm across and 7.0-12.0μm in height, single in clusters of a few, or conspicuously caespitose, up to 200μm tall, and 4.5-6.0μm wide at the base (Fig. 7 to 9). The conidia are acrogenous, gangliar, solitary, dry, brown, somewhat obclavate, narrowing at the base to a flattened scar 2-3μm wide, widest midway in the lower half, typically 3-euseptate, often with the two median cells larger and longer than the end cells, smooth-walled, each with a smoothly rounded hyaline to subhyaline apical cap about 4.5-7.5μm long. The conidia are 28-36 x 6-9μm (Fig. 10-11).

Conidium ontogeny in this fungus seems to be unique (Fig. 12 to 17). After the first conidium which develops terminally on the apical cell is shed, the conidiogenous cell proliferates (percurrently) to produce a conidium subtended by a characteristically lageniform basal cell, a process that is repeated almost indefinitely so that a conidiophore may have several such lageniform conidium-subtending cells in a linear series, depending on the number of successive conidia so produced at higher and higher levels. When mature, the proliferations become dark-coloured and thick walled. Early stages in development of these apparent percurrent proliferations show clearly the hyaline or subhyaline wall of the conidium and subtending lageniform cell to be continuous with and external to the subtending lageniform proliferation - clearly not enteroblastic (Fig. 12, 14 and 17). Each conidium initial apparently has a layered wall: the outer hyaline or subhyaline layer gets broken early and the upper part of the broken wall presumably remains as a cap (Fig. 17). Ultrastructural study would help a better understanding of the finer details of conidiogenesis and genesis of the characteristic conidial cap.

The second fungus was also collected on *Smilax* sp. from Cameroon Highlands (S 120d) and is basically similar to the first one, but yet distinct. The conidiophores arise from repent hyphae and are small, robust, erect, straight or bent, subcylindrical, brown, thick-walled, septate, 80-180μm tall, 7.5-10.5μm wide, slightly narrowed at the tip, (percurrently) proliferating on secession of the successively produced solitary conidia (Fig. 19-20). The conidia are gangliar, acrogenous, solitary, brown, obclavate-fusiform to fusiform, widest midway in the lower half, truncate at the base, smooth-walled, smoothly rounded at the tip, 4-septate, the second cell from the base usually the longest, followed by the cell immediately above, the apical cell the shortest and usually the smallest, each with an apical cap, 45-51 x 7-11μm, 4.5-6.0μm wide at the truncate base. Following secession of the first conidium which develops at the apex of the conidiophore, the conidiophore proliferates terminally to give rise to a characteristically lageniform proliferation and a conidium initial at the tip of the proliferation (Fig. 21-25). The second conidium, when mature, is disloged at the junction between the tip of the lageniform cell and the conidium itself. The process is repeated. Conidiogenesis is closely similar to what has been seen in S 118. The

lageniform proliferations become thick-walled and dark-coloured when mature and are 15-32 x 7-9μm. One or two what appear to be rare cases of germ tube emergence (? germination) from the apical cap of conidia have been seen (Fig. 26).

This fungus has more robust conidiophores, longer lageniform proliferations and larger conidia that are 4-septate instead of being 3-septate compared to the first one. The two fungi are obviously congeneric.

The simple, dark, erect conidiophores with lageniform percurrent proliferations and the brown, gangliar phragmoconidia are reminiscent of *Sporidesmium nodipes* (Penz. & Sacc.) Hughes and a few other species of *Sporidesmium* that have similar conidiophores. These have been redisposed by Subramanian (1991) in a separate genus, *Penzigomyces*. Nevertheless, the ever-present conidial cap in the two fungi described here is unique and has not been observed by the author in the type and other specimens of *Sporidesmium nodipes* which he has examined; they are not seen even in the author's fresh collections of this taxon from S.E. Asia. Apparently, there is no genus known in which the two fungi from Cameroon Highlands can be accomodated satisfactorily. A new genus *Javonarxia* is proposed here to take them. The generic name is in honour of my good and long-time friend, the late Dr. J.A. von Arx, former Director, CBS, Baarn, the Netherlands, and commemorates both his contributions to science and his humanity.

JAVONARXIA **Subramanian anamorph gen. nov.**

Dematiaceous hyphomycete producing gangliar conidia. Conidiophores simple, erect, brown, septate, with a succession of lageniform 'percurrent' proliferations. Conidia acrogenous on conidiophore and successive proliferations, solitary, obclavate, fusiform, or fusiform-obclavate, euseptate, truncate at base, rounded at apex, with an apical cap.

Hyphomycete dematiacea conidia ganglica producentes. Conidiophora non ramosa, erecta, fusca, septata, cum proliferationes successivae terminales lageniformes percurrens. Conidia acrogena ad apicem conidiophororum et proliferationem successivum, solitaria, obclavata, fusiformia, vel fusiformia-obclavata, euseptata, truncata ad basim, rotundata ad apicem, cum pileatus apicali.

Species typica: Javonarxia triseptata Subramanian sp. nov.

JAVONARXIA TRISEPTATA **Subramanian sp. nov.**

Mycelium superficial, hyperparasitic or overgrowing epiphytic hyphopodiate mycelium. Conidiophores erect, simple, cylindrical, thick-walled, dark brown, septate, single, gregarious or caespitose, up to 20μm tall, 4.5-6.0μm wide. Conidia acrogenous, gangliar, solitary, brown, dry, obclavate, widest midway in the lower half, narrowing towards the base to a flattened scar 2-3μm wide, typically 3-euseptate, often with the two median cells larger and longer than the end cells, smooth, smoothly rounded at the apex, 23-36 x 6-9μm, and with a hyaline to subhyaline apical cap about 4.5-7.5μm long.

Type: on twigs of *Smilax* sp. (Liliaceae), Cameroon Highlands 17.v.1987, Coll. C.V. Subramanian (S 118).

Mycelium superficiali, hyperparasitici, vel superorti mycelium epiphytis hyphopodiatis. Conidiophora erecta, simplicia, cylindrica, crassitunicata, atro-fusca, septata, solitaria vel gregaria vel caespitosa, usque ad 20μm alta, 4.5-6.0μm lata. Conidia acrogena, ganglica, solitaria, fusca, sicca, obclavata, latissima ad

media dimidio inferiore, angustata et truncata et 2-3µm lata ad basim, 3-euseptata, levia, rotundata ad apicem, 28-36 x 6-9µm, et cum pileatus apicali vel 4.5-7.5µm longi.

Typus lectus caulibus Smilacis sp. (Liliaceae), Cameroon Highlands, Malaysia, 7.v.1987, leg. C.V. Subramanian, sub numero S 118.

JAVONARXIA QUADRISEPTATA Subramanian sp. nov.

Mycelium superficial, composed of subhyaline to brown, septate hyphae. Conidiophores simple, robust, erect, straight or bent, subcylindrical, brown, thick-walled, septate, 80-180µm tall, 7.5-10.5µm wide, proliferating successively on secession of the successively produced solitary conidia. Conidia acrogenous, solitary, gangliar, brown, obclavate-fusiform to fusiform, widest midway in the lower half, truncate at the base, smooth-walled, smoothly rounded at the tip, 4-septate, the second cell from the base usually the longest, followed by the cell immediately above, the apical cell the shortest and usually the smallest, each with an apical cap, 45-51 x 7-11µm, 4.5-6.0µm wide at the truncate base. Lageniform proliferations thick-walled, dark coloured when mature, 15-32 x 7-9µm.

Type: on twigs of *Smilax* sp. (Liliaceae) Cameroon Highlands, Malaysia, 7.v.1987, Coll. C.V. Subramanian, No. S 120d.

Mycelium superficiale ex hyphis subhyalinis vel fuscis, septatis compositum. Conidiophora simplicia, robusta, erecta, recta vel flexa, subcylindrica, fusca, crassitunicata, septata, 80-180µm alta, 7.5-10.5µm lata, proliferata subinde post secernens conidiae succesivae productae. Conidia acrogena, solitaria, ganglica, fusca, obclavato-fusiformia, vel fusiformia, latissima ad median in dimidio inferiore, truncata ad basim, levia, rotundata ad apicem, 4-septata, 45-51 x 7-11µm, 4.5-6.0µm lata ad basim, cum pileatus apicalis. Proliferationes lageniformis crassitunicatis, atris, 15-32 X 7-9µm.

Typus lectus in caulibus Smilacis sp. (Liliaceae), Cameroon Highlands, Malaysia, 7.v.1987, leg. C.V. Subramanian sub numero S 120d.

REFERENCES

DIXON P.A., 1985 - Conidiogenesis in *Padixonia bispora* Subram. (Hyphomycetes). *Bot. J. Linn. Soc.* 91: 203-217.

SUBRAMANIAN C.V., 1972 - *Padixonia*, a new genus of Hyphomycetes. *Curr. Sci.* 41: 282-283.

SUBRAMANIAN C.V., 1977 - Revisions of Hyphomycetes-I. *Kavaka* 5: 93-98.

SUBRAMANIAN C.V., 1991 - The genus *Sporidesmium* Link - A re-appraisal (in preparation).

Source : MNHN, Paris

LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE *DRECHSLERA TERES*: ACTION *IN VITRO* DE MICROORGANISMES ANTAGONISTES SUR LA CROISSANCE MYCÉLIENNE ET LA GERMINATION

M. MOSTAFA, G. BARRAULT et L. ALBERTINI

Laboratoire d'Ingénierie Agronomique, Ecole Nationale
Supérieure Agronomique, 145 avenue de Muret,
31075 Toulouse Cedex, France.

RÉSUMÉ - Cette étude a trait à l'activité antagoniste de microorganismes fongiques et bactériens sur les deux séquences biologiques majeures de *Drechslera teres* (croissance et sporulation). Les antagonistes les plus efficients sur la croissance mycélienne du pathogène appartiennent au genre *Trichoderma*. L'inhibition de la morphogenèse mycélienne est fonction de la température et du pH. Les actinomycètes ainsi que *Myrothecium verrucaria* exercent une activité antagoniste remarquable sur la germination conidienne liée à l'émission de substances antibiotiques télétoxiques.

ABSTRACT - These investigations showed the antagonistic action of fungal and bacterial microorganisms on the two major biological sequences of *Drechslera teres*. The antagonists that were the most efficient on mycelial growth belong to the genus *Trichoderma*. The inhibition of mycelial morphogenesis was temperature and pH dependent. The outstanding efficiency of antagonistic actinomycetes as well as of *Myrothecium verrucaria* on conidial germination was related to the release of teletoxic antibiotic substances.

MOTS CLÉS : Lutte biologique, antagonisme, *Drechslera teres*, *Hordeum vulgare*.

INTRODUCTION

Les changements profonds dans les modes de production agricole peuvent être à l'origine, du moins en partie, de nombreux problèmes qui se posent actuellement dans les agro-écosystèmes céréaliers tant en ce qui concerne la structure et la fertilité des sols, que l'état sanitaire des cultures.

Ainsi, depuis une dizaine d'années environ, une maladie fongique causée par *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. (= *Helminthosporium teres* Sacc.) anamorphe de *Pyrenophora teres* Drechs. a pris soudainement un caractère épidémique en France, en particulier dans les régions où l'orge est largement représentée. Ce pathogène se présente sous deux formes, *teres* et *maculata*, qui diffèrent par la morphologie des symptômes qu'ils induisent sur l'hôte (Barrault, 1989).

Un certain nombre de matières actives appliquées en végétation, possèdent un bon niveau d'efficacité à l'égard de la maladie à l'instar du propiconazole et du prochloraze (Metcalfe & Jones, 1985; Maufras & Chabanel, 1989). Cependant, la lutte chimique ne constitue pas une panacée

compte tenu des problèmes inhérents à l'environnement et à la possibilité d'apparition de pathotypes résistants aux fongicides. En Nouvelle-Zélande, Sheridan & Grbavac (1985) démontrent d'ailleurs la présence de souches de *D. teres* f. *teres* résistantes au triadiménol.

Dans un tel contexte, la lutte contre ce pathogène peut s'orienter vers le développement de microorganismes antagonistes capables d'inhiber ses différentes séquences biologiques (croissance, sporulation, conservation).

Les premiers travaux relatifs à cette thématique de recherche ont été menés dans notre laboratoire (Al-Ali et al., 1979). Ils s'inscrivent dans le cadre de la mise au point d'une méthode de lutte biologique fondée sur les antagonismes fongiques et/ou bactériens, nécessitant l'application d'une démarche méthodologique dont les étapes ont été définies par Sy et al. (1978). La première de ces étapes consiste à rechercher, isoler, et expérimenter *in vitro* des germes qui inhibent non seulement la croissance mycélienne du pathogène mais aussi la germination conidienne. Le travail de Al-Ali et al. (1979) ne constitue qu'une contribution à la première étape, il met cependant en exergue l'activité antagoniste de *Trichoderma harzianum* et d'un Actinomycète sur la croissance mycélienne de *D. teres* f. *maculata*.

Après un criblage permettant de dégager les antagonistes les plus performants, l'objet de ce travail est de compléter cette première phase de recherche en étudiant l'action des germes sélectionnés sur les deux séquences biologiques prédominantes du pathogène (croissance mycélienne et germination conidienne).

MATÉRIEL ET MÉTHODES

MATÉRIEL BIOLOGIQUE

Le pathogène

Les souches monoconidiennes issues de la forme *teres* (R_1, R_3) et de la forme *maculata* (S_5, S_8) sont conservées sur des fragments de paille sous la forme de sclérotes, selon la méthode décrite par Barrault (1989).

Les antagonistes

A l'issue d'un screening préliminaire (souches isolées à partir de pailles d'orge et de terre humifiée), quatre champignons saprophytes (*Trichoderma* sp/BBL124, *Trichoderma viride*/NRG-1; *Trichoderma pseudokoningii*/N69; *Myrothecium verrucaria*/N76-1) et deux actinomycètes (N51 et N105) ont retenu notre attention en raison de leur activité antagoniste élevée.

MÉTHODOLOGIE

Confrontation directe pathogène-antagoniste.

Croissance mycélienne

Les inoculums du pathogène et de l'antagoniste constitués par des disques (diamètre = 4 mm) sont placés à 20 mm de distance l'un de l'autre, symétriquement par rapport au centre de la boite de Petri contenant 30 ml de milieu PCA (Pomme de terre 20g, carotte 20g, gélose 15g, eau distillée 1000 ml).

L'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène (exprimée en surface) par les antagonistes est évaluée en pourcentage selon la méthode décrite

par Sy (1976). En ce qui concerne l'étude de l'influence de la température et du pH sur la confrontation pathogène-antagoniste, quatre températures (10, 18, 23 et 30°C) et cinq valeurs de pH (3,7; 5,1; 6,1; 7,3; et 8,3) ont été testées.

Germination conidienne

- Préparation de la suspension conidienne du pathogène

Les conidies du pathogène (R_3) sont issues d'une culture mise à incuber à 23°C (à l'obscurité, pendant 4 j sur un milieu PCA) puis transférées pendant 8 j à la lumière (héméropériode de 12 h/jour). La suspension condienne (dans de l'eau distillée stérile) est ajustée à une concentration égale à 10^5 conidies par ml.

- Préparation de la suspension des antagonistes

Chaque suspension conidienne issue d'un antagoniste fongique (10^6 conidies par ml) est réalisée à partir d'une culture âgée de 12 j.

Pour les actinomycètes, la suspension (composée d'environ 10^6 fragments mycéliens par ml) est obtenue à partir d'une culture âgée de 8 j sur un milieu liquide (V_8 à 5%, pH = 6), après broyage du mycélium dans de l'eau distillée stérile.

La confrontation directe est réalisée par l'adjonction à 0,1 ml de suspension d'antagoniste, de 0,1 ml de suspension sporale du pathogène dans la cupule d'une lame à concavité. Après 20 h d'incubation, en chambre humide, à 23°C, nous avons déterminé: le taux d'inhibition de la germination (I.G. %), l'indice théorique de colonisation (I.T.C.) et le taux de réduction de l'I.T.C. du pathogène, selon la méthode de Sy (1987).

- Confrontation indirecte pathogène-antagoniste

Les antagonistes sont cultivés en milieu liquide statique (V_8 à 5%) et les filtrats bruts recueillis après 7, 14, 21 et 30 jours sont stérilisés à froid sur une membrane "Millipore" (0,2μ).

Chaque filtrat est ensuite incorporé stérilement (après ajustement du pH à 6) dans le milieu de culture en surfusion du pathogène (P.C.A.), à raison de 25%. Le filtrat qui détermine, pour un antagoniste donné, l'inhibition maximale du parasite est considéré comme solution mère. Les dilutions successives de la solution mère de chaque antagoniste permettent d'établir une gamme de concentrations allant de 5 x 10^{-2} à 80 x 10^{-2} dans le milieu (V_8 à 5%, pH = 6) et de comparer l'efficacité des antagonistes (détermination de la concentration qui inhibe à 50% la croissance mycélienne et/ou la germination conidienne (C.I. 50)).

Dans tous les cas, les analyses statistiques sont effectuées après transformation en Arc sin $\sqrt{\%}$.

RÉSULTATS

Confrontation directe

- Croissance du pathogène

L'examen du Tableau I montre que *Trichoderma* sp/BRL124, *Trichoderma viride*/0NRG-1 et *Trichoderma pseudokoningii*/N69 présentent l'action antagoniste la plus nette à l'encontre des différentes souches de *D. teres* (inhibition comprise entre 74 et 92%) tandis que les actinomycètes et *Myrothecium verrucaria*/N76-1 sont les moins efficients (inhibition comprise entre 15 et 38%).

Tableau 1 - Action des antagonistes fongiques et bactériens sur *Drechslera teres* f. *teres* (R_1, R_3) et *D. teres* f. *maculata* (S_5, S_8). Is (%) = taux d'inhibition de la croissance mycélienne (exprimée en surface). Milieu P.C.A., pH = 6,1, t° = 23°C, obscurité, incubation = 6j. X, Y, correspondent aux pourcentages transformés Arc Sin $\sqrt{\%}$.

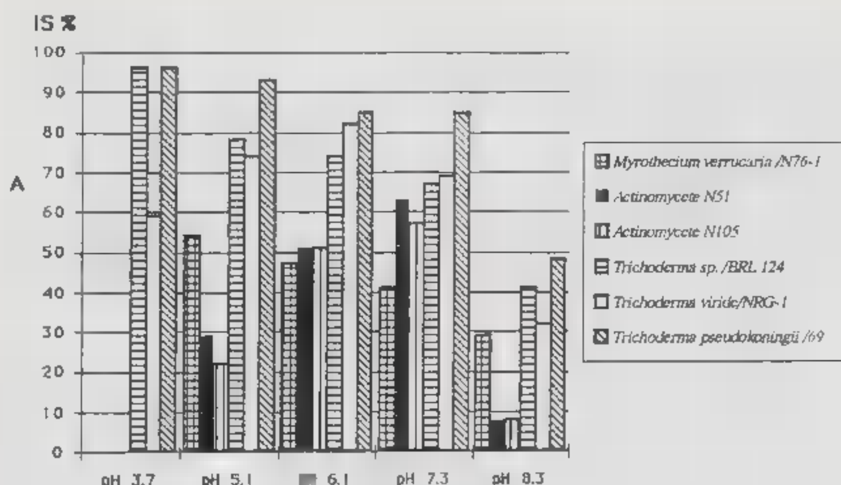
Table 1 - Action of fungal and bacterial antagonists on *D. teres* f. *teres* (R_1 and R_3) and *D. teres* f. *maculata* (S_5 and S_8): rate of inhibition (Is %) of the surface growth of the parasite colonies. (PCA medium, pH = 6.1, 23°C, incubation in the dark for 6 days). X, Y, percentage transformed using angular arcsine.

Antagonistes	Is (%) R1	R3	S5	S8	Moyenne %	Y
Trichoderma sp./BRL124	81	86	84	92	85,8	68,13[a]
Trichoderma viride/NRG-1	79	76	80	80	78,8	62,58[b]
Trichoderma pseudokoningii/N69	74	75	75	83	76,8	61,19[b]
Myrothecium verrucaria/N76-1	23	36	35	34	32	34,36[c]
Actinomycéte/N51	22	38	32	31	30,8	33,09[c]
Actinomycéte/N105	15	33	26	24	24,5	31,39[c]
Moyenne (%)	49	57,3	55,3	57,3	54,7	
X	45,39[b]	49,67[a]	48,58[a]	50,19[a]		

Les antagonistes les plus performants agissent essentiellement par contact avec enveloppement du parasite. En effet, dans cette situation, l'inhibition de la croissance du pathogène est d'autant plus élevée que la vitesse de croissance des antagonistes est grande. Les germes retenus semblent posséder un spectre d'action suffisamment large pour exercer leur pouvoir antagoniste à l'encontre des formes *teres* et *maculata* du pathogène.

L'examen de la Fig. 1A fait ressortir qu'à pH acide (3,7) *Trichoderma pseudokoningii*/N69 et *Trichoderma* sp/BRL124 inhibent à 100% la croissance du parasite. En revanche, cette valeur de pH, si elle permet à *Trichoderma viride*/NRG-1 d'inhiber à 60% la croissance du pathogène, est défavorable à l'expression antagoniste de *Myrothecium verrucaria* et des deux actinomycètes. L'efficacité maximale des actinomycètes est obtenue pour la valeur de pH égale à 7,3. *Trichoderma viride*/NRG-1 est le plus actif à pH 6,1 et *Myrothecium verrucaria* à 5,1.

La Fig. 1B montre que le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène par un antagoniste varie en fonction de la température. L'efficience maximale des germes se manifeste à la température de 30°C, excepté pour *Trichoderma pseudokoningii*/N69 et *Trichoderma* sp/BRL124 pour lesquels les températures de 25°C et de 30°C déterminent un pourcentage d'inhibition non significativement différent. A température basse (10°C), si dans l'ensemble les antagonistes sont peu efficaces, on remarque cependant que *Trichoderma viride*/NRG-1 détermine une réduction de la croissance mycélienne de l'ordre de 60%.



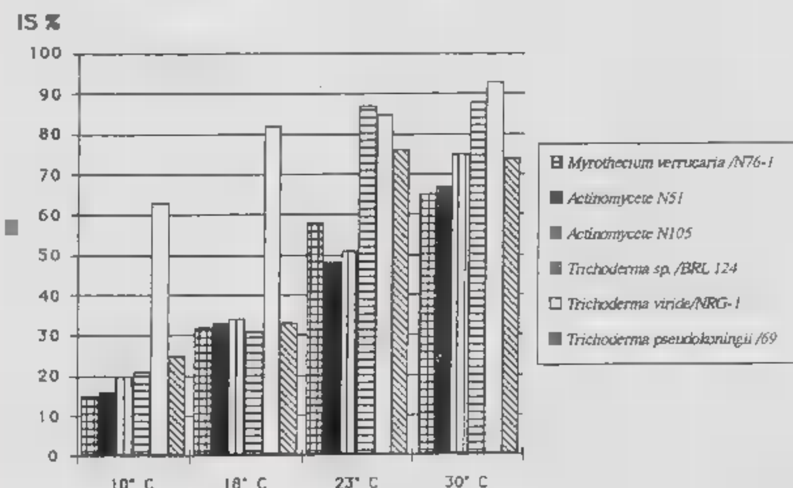


Fig. 1 - Pourcentage d'inhibition de la croissance (exprimée en surface) de *Drechslera teres* (R_3) par les antagonistes en fonction: A, du pH, B, de la température (Milieu P.C.A.; pH = 6,1; incubation = 5 j; obscurité).

Fig. 1 - Percentage of inhibition (Is) of the surface growth of *D. teres* (strain R_3) by various antagonists in relation to: A: pH; B: temperature (P.C.A. medium, incubation in the dark for 5 days).

Germination conidienne (Tabl. 2)

Les deux actinomycètes (N51 et N105) et *Myrothecium verrucaria* ont une remarquable action antagoniste sur cette séquence biologique puisque la germination des conidies est réduite à néant et que le taux de réduction de l'indice théorique de colonisation est donc de 100%.

Les autres germes, *Trichoderma* sp./BRL124, *Trichoderma pseudokoningii*/N69 et *Trichoderma viride*/NRG-1 entrainent une inhibition par-

tielle de la germination du parasite (respectivement de 88, 74 et 65%) avec également une inhibition corrélative (r = 0,98) de l'élongation du tube germinatif (46, 30 et 20%) et un taux de réduction de l'indice théorique de colonisation de 93,8, 81,9 et 72,3%.

Tableau 2 - Action de différents antagonistes sur la germination conidienne de *D. teres* (R_3) (incubation = 20 h, t° = 23°C). (1) I.G.% = taux d'inhibition de la germination conidienne. (2) I.T.% = taux d'inhibition de la croissance du tube germinatif. (3) L'indice théorique de colonisation (I.T.C.) exprimé par rapport au témoin est le produit du taux de germination et de la longueur moyenne du tube germinatif de *D. teres* en présence de l'antagoniste considéré. (4) T.R.I.C.T. = taux de réduction de l'indice théorique de colonisation.

Table 2 - Action of various antagonists on the conidial germination of *D. teres* (R_3) (incubation at 23°C for 20 h). (1) I.G.% = conidial germination inhibition rate. (2) I.T.% = germinative tube growth inhibition rate. (3) Theoretical colonization index (I.T.C.) expressed with respect of the control, it is the product of the average germination rate and of the average length of the germinative tube of *D. teres* in the presence of the antagonist. (4) T.R.I.C.T. = The rate of decrease in the theoretical colonization index.

Antagonistes	I.G. (%) (1)	I.T. (%) (2)	I.T.C. (3)	T.R.I.C.T. (4)
Témoin	-	-	3800	-
Actinomycète/N51	100	100	0	100
Actinomycète/N105	100	100	0	100
Trichoderma viride/NRG-1	65	20	1050	72,3
Myrothecium verrucaria/N76-1	100	100	0	100
Trichoderma pseudokoningii/N69	74	30	696,6	81,9
Trichoderma sp./BRL124	88	48	237,12	93,8

Confrontation indirecte (Tabl. 3)

Les activités antifongiques des filtrats de culture de *Myrothecium verrucaria* et de l'actinomycète N51 sur la croissance de *D. teres* se révèlent être les meilleures (C.I. 50 respectivement égale à 12 x 10^{-2} et 14 x 10^{-2}). Les filtrats de *Trichoderma pseudokoningii*/N69 et de *Trichoderma* sp./BRL124 ont une efficacité moyenne (5,2 x 10^{-3} et 4,6 x 10^{-3}); enfin ceux issus de *Trichoderma viride*/NRG-1 sont les moins efficients.

DISCUSSION

Cette étude *in vitro* montre l'efficacité d'un certain nombre d'antagonistes fongiques et bactériens sur deux séquences biologiques essentielles du pathogène, à savoir, la croissance mycélienne et la germination conidienne.

Sur la croissance mycélienne, dans les conditions optimales de développement du parasite, les antagonistes les plus performants sont des microorganismes dont l'action est essentiellement d'ordre physique, par contact, avec enveloppement du pathogène. L'inhibition de la croissance du parasite est corrélée positivement avec la vitesse de croissance des germes antagonistes appartenant au genre *Trichoderma*. Parmi ceux-ci, on trouve *Trichoderma viride* /NRG-1 qui a déjà montré sa capacité à inhiber la croissance mycélienne de *Botrytis cinerea* (Norng, 1979). En réalité, il semble que ces antagonistes agissent également par émission de substances antifongiques si l'on en juge par les résultats de la confrontation indirecte montrant que le filtrat de culture est sus-

Tableau 3 - Taux d'inhibition de la croissance de *D. teres* (R_3) en fonction de plusieurs concentrations de filtrats d'antagonistes fongiques et bactériens. Détermination de la C.I.50. (Milieu V_8 à 5%, gélose, t° = 23°C, obscurité, durée d'incubation 6 jours, pH = 6).

Table 3 - Percentage of inhibition of the growth surface of *D. teres* by various filtrates concentrations of fungal and bacterial antagonists of *D. teres*. Determination of C.I.50. (Solid V_8 5% medium, t° = 23°C, pH = 6, incubation in dark for 6 days).

Antagonistes	Concentration des filtrats	% d'inhibition de la croissance	C.I. 50
M. verrucaria/N76-1	5×10^{-2} 10×10^{-2} 30×10^{-2} 50×10^{-2}	21 49 83 100	12×10^{-2}
Actinomycète /N51	5×10^{-2} 10×10^{-2} 30×10^{-2} 50×10^{-2}	17 45 75 95	14×10^{-2}
Trichoderma sp./BRI.124	10×10^{-2} 30×10^{-2} 50×10^{-2} 80×10^{-2}	10 18 47 75	46×10^{-2}
T. pseudokoningii/N69	10×10^{-2} 30×10^{-2} 50×10^{-2} 80×10^{-2}	14 35 52 82	52×10^{-2}
Trichoderma viride/NRG-1	10×10^{-2} 30×10^{-2} 50×10^{-2} 80×10^{-2}	14 12 32 65	70×10^{-2}

ceptible d'inhiber de maniée tangible la croissance du pathogène. Cependant, cette activité antifongique est loin d'être comparable à celle extériorisée par *Myrothecium verrucaria* et les actinomycètes N51 et N105. L'efficience des microorganismes sus-nommés est liée exclusivement à la biosynthèse de substances télétoxiques qui perturbent la croissance du pathogène. Cette inhibition du développement se matérialise par la présence de morphoses mycéliennes (filaments hypertrophiés généralement hyperseptés et hyperramifiés). Ce phénomène est décrit par Al-Ali et al. (1979) lors de la confrontation entre *D. teres* f. *maculata* et un actinomycète (N19) et par Norng (1979) dans le binôme *Botrytis cinerea-Myrothecium verrucaria*.

Le pouvoir antagoniste des germes sélectionnés (qu'ils agissent à distance ou par contact) semble suffisamment polyvalent pour s'exercer sur les deux formes du pathogène. Ce résultat, s'il se confirme sur un grand nombre de souches issues de la f. *teres* et de la f. *maculata* est loin d'être négligeable compte-tenu que l'étude de l'action de certains fongicides sur la croissance et la germination de *D. teres* montre une sensibilité amoindrie de la f. *maculata* (non publié).

L'inhibition de la croissance mycélienne d'un pathogène *in vitro* par des antagonistes apparait nettement dépendante non seulement de la température

mais également du pH (Norng, 1979; Van Den Boogert & Jager, 1984; Sy, 1987). En ce qui concerne la température, l'efficience maximale des antagonistes s'exerce ici aux températures optimales et supra-optimales de *D. teres* (25° et 30°C).

Cette efficacité est liée au thermopréférendum de ces antagonistes (Mostafa, 1982). Cependant *Trichoderma viride*/NRG-1 à une température de 10°C supraminimale pour le pathogène (Barrault, 1989), a un pouvoir antagoniste non négligeable. Dans la mesure où cette température est fréquente (en hiver au cours de la journée ou même au printemps et en automne durant la nuit) il est parfaitement convenable de considérer que cet antagoniste implanté à la surface des pailles puisse juguler la croissance du parasite et donc diminuer l'importance de l'inoculum primaire.

Outre la température dont nous venons de souligner le rôle dans l'expression finale de l'antagonisme, le facteur pH exerce également une influence non négligeable au cours des interactions antagonistes x parasites, *in vitro*. L'efficience remarquable de *Trichoderma pseudokoningii*/N69 et de *Trichoderma* sp./BRL124, à pH 3,7 s'explique par l'interaction de deux facteurs:

• une croissance optimale de ces antagonistes à pH très acide (Mostafa, 1982),

• un faible développement de *D. teres* à ce pH, l'optimum étant de 5 à 6 (Barrault, 1989). Nous retrouvons dans cette confrontation avec *D. teres* le caractère de l'activité des antagonistes fongiques efficaces à l'égard de *Pyricularia oryzae* (Sy, 1987) ou de *Helminthosporium turcicum* (Mickala-Doukaga et al., 1978) à savoir que les antagonistes s'expriment d'autant mieux qu'ils trouvent des conditions de pH favorables à leur croissance.

L'activité des autres antagonistes fongiques, à l'instar de *Trichoderma viride*/NRG-1 et de *Myrothecium verrucaria* est maximale également pour des pH acides (cependant plus élevés que précédemment). Cependant la corrélation existant entre la vitesse de croissance de l'antagoniste et l'activité antagoniste n'est pas toujours vérifiée dans la mesure où l'inhibition du pathogène est liée à l'existence de métabolites dont la production n'est pas nécessairement corrélée positivement avec la croissance (ex: *Myrothecium verrucaria*).

Les deux actinomycètes antagonistes qui s'expriment par l'émission de composés antibiotiques sont les plus efficients à un pH basique (ou voisin de la neutralité). Ce sont des conditions généralement favorables à la croissance et à la biosynthèse des métabolites chez les bactéries.

Le blocage du développement du parasite peut être occasionné par une inhibition affectant soir l'émission et/ou l'élongation du tube germinatif, soit la différenciation de l'appressorium. Nos résultats montrent la remarquable efficacité des actinomycètes et de *Myrothecium verrucaria* sur cette séquence biologique, puisqu'ils réduisent à néant l'émission du tube germinatif. D'ores et déjà on peut entrevoir leur utilisation dans le cadre d'une lutte préventive dans la mesure où leur innocuité à l'égard de l'hôte aura été prouvée.

Le présent travail ne constitue qu'une première étape dans la mise au point d'une méthode de lutte biologique. Nous serons amenés à poursuivre notre expérimentation *in vitro* en étudiant l'action des antagonistes sur d'autres séquences biologiques du pathogène à l'instar de la conservation qui est polymorphe ("resting mycelium", chlamydospores, périthèces, sclérotes).

RÉFÉRENCES

AL-ALI B., BARRAULT G. et ALBERTINI L., 1979 - Action *in vitro* d'antagonistes fongiques et bactériens sur la croissance mycélienne de l'*Helminthosporium teres* parasite de l'orge. *Bull. Soc. Mycol. France* 95: 279-295.

BARRAULT G., 1989 - L'helminthosporiose de l'orge causée par *Drechslera teres*. Thèse Doctorat d'Etat, INP Toulouse.

MAUFRAS J.Y. et CHABANEL Y., 1989 - Les maladies des orges. *Perspectives Agricoles* 142: 66.

METCALFE N.D.S. and JONES D.G., 1985 - Evaluation of fungicides for control of net blotch of winter barley. *Ann. Appl. Biol.* 106: 42-43.

MICKALA-DOUKAGA E., ALBERTINI L. et PETITPREZ M., 1978 - Action *in vitro* d'antagonistes fongiques sur la croissance mycélienne de l'*Helminthosporium turcicum* Pass., parasite du maïs. *Bull. Soc. Mycol. France* 94: 33-47.

MOSTAFA M., 1982 - Recherches sur la lutte biologique contre l'*Helminthosporium teres*, parasite de l'orge, par l'utilisation de microorganismes antagonistes et d'une souche hypoagressive. Thèse Docteur-Ingénieur, n° 220, INP Toulouse.

NORNG K., 1979 - Recherches sur la lutte biologique contre le *Botrytis cinerea* Pers., parasite de la vigne par utilisation d'antagonistes fongiques. Thèse Docteur-Ingénieur, n° 72, INP Toulouse.

SHERIDAN J.E. and GRBAVAC N., 1985 - Cultivar differences in response to triadimenol seed treatment for control of barley net blotch caused by *Pyrenophora teres*. *Pl. Dis.* 69: 77-80.

SY A.A., ALBERTINI L. et HAMANT C., 1978 - Recherches sur la lutte biologique contre *Pyricularia oryzae*. Action *in vitro* d'antagonistes fongiques sur la germination des conidies du parasite. *Rev. Gén. Bot.* 85: 63-81.

SY A.A., 1987 - Lutte biologique contre la pyriculariose du riz (*Pyricularia oryzae*). Stratégie et applications. Thèse Doctorat d'Etat, n° 120, INP Toulouse.

VAN DEN BOOGERT P.H. and JAGER G., 1984 - Biological control of *Rhizoctonia solani* on potatoes by antagonists. Inoculation of seed potatoes with different fungi. *Netherlands J. Pl. Pathol.* 90: 117-126.



Source : MNHN, Paris

INFLUENCE OF SOIL MANAGEMENT SYSTEMS ON THE MICROFUNGAL COMMUNITIES OF POTATO FIELD

A.K. SHUKLA and R.R. MISHRA

Department of Botany, School of Life Sciences, North-Eastern Hill University, Shillong - 793 014, India.

ABSTRACT - Soil microflora of three systems was estimated for two crop cycles. Maximum fungal propagules were recorded in valley land soil followed by terrace land and slope land soils. Number of fungal propagules were higher in surface soil which decreased with increasing soil depth. A total number of 26, 21 and 27 species of fungi were isolated from valley land, terrace land and slope land respectively. *Mucor* spp., *Fusarium* spp., *Penicillium* spp. and *Trichoderma* spp. were dominant fungi in all the three systems. Similarity index of fungal species indicated that valley land was more similar to terrace land and differed markedly from slope land.

RÉSUMÉ - Estimation de la microflore du sol de 3 systèmes agricoles différents sur 2 cycles de récolte. Le maximum de propagules fongiques est enregistré dans le sol de vallée, il est suivi par les sols de culture en terrasse puis de versant. Le nombre de propagules est plus élevé en surface et décroît avec la profonduer du sol prélevé. 26, 21 et 27 espèces de champignons ont été isolés respectivement des systèmes vallée, culture en terrasse et versant. Les *Mucor*, *Fusarium*, *Penicillium* et *Trichoderma* sont dominants dans les 3 systèmes. Des indices de similarité indiquent que le système vallée est plus proche de la culture en terrasse et diffère fortement du système versant.

KEY WORDS : microfungal communities, succession.

INTRODUCTION

Soil is impregnated with a variety of heterotrophic microorganisms. In soil, fungi and bacteria are responsible for breakdown of organic matter and release of nutrients. They are also known to be responsible for nutrient transformation, particularly in the case of nitrogenous and phosphatic minerals. Fungi are most important primary consumers of decomposable materials of soil. Soil not only provides a very conductive habitat for fungi, but a major part of soil microbial biomass is comprised of fungi. Clark & Paul (1970) reported about twice as much fungal biomass as bacterial biomass. Soil microflora thus exerts considerable influence on the soil fertility and plant growth. In agricultural soils, ploughing, tillage, application of fertilizers and biocides and type of cultivation affect the microorganisms. The plant species growing on the soil also exert very important influence on the population and species composition of the soil fungi (Mishra & Sharma, 1977).

A number of studies on soil microorganisms have been carried out on forest and grassland soils (Mishra, 1966; Christensen, 1969; Lewis et al., 1971; Widden, 1979). Microbiological studies of agricultural soil have received less at-

tention (Domsch & Gams, 1972; Soderstrom et al., 1983). Present study deals with the effect of different agricultural systems on the succession of fungal communities in potato field soil for two crop cycles.

MATERIALS AND METHODS

The study was carried out at Upper Shillong (altitude 1706-1730m, latitude 25°34″ and longitude 91°56″E) in east Khasi Hills District of Meghalaya, India. The climate of the area is subtropical and can be divided into four marked seasons - (i) a summer season of heavy rainfall (May-September), (ii) a transitional period of mild temperature and low rainfall (October-November), (iii) a winter season (December-February), (iv) windy spring (March-April). Annual precipitation during the study period was 1570mm and the most rainfall occurred between April and September. The average minimum and maximum temperature of the study site was 1.0°C and 23°C respectively. The top soil is

Table 1. Moisture content (MC), pH, Organic carbon (C), total nitrogen (N), available phosphorus (P) and exchangeable potassium (K) of soils of different agriculture systems (Data are mean of three depths 10, 20 and 30cm for two years 1985-1986).

Tableau 1: Teneur en humidité (MC), pH, carbone (C), azote (N), phosphore (P) et potassium (K) des sols des différents systèmes agricoles (moyenne des 3 profondeurs pour les 2 années 1985-1986).

Sampling date	UPLAND						TERRACE LAND					
	MC	pH	C	N	P	K	MC	pH	C	N	P	K
10 Sep.	31.25	4.58	1.55	0.15	0.01	0.02	38.44	4.78	2.90	0.17	0.03	0.03
20 Sep.	32.04	4.67	1.39	0.16	0.01	0.02	37.42	4.27	2.87	0.18	0.04	0.04
30 Sep.	28.45	4.71	1.39	0.16	0.02	0.03	35.25	4.52	2.88	0.18	0.04	0.05
10 Oct.	30.57	4.71	0.92	0.16	0.02	0.04	34.21	4.70	2.68	0.19	0.05	0.05
20 Oct.	29.16	4.55	1.09	0.16	0.02	0.03	35.05	4.46	2.50	0.18	0.04	0.05
30 Oct.	25.55	4.80	1.29	0.16	0.01	0.03	30.80	4.72	3.02	0.18	0.04	0.05
10 Nov.	24.66	4.49	1.37	0.15	0.01	0.02	30.48	4.69	2.58	0.17	0.03	0.07
20 Nov.	24.41	4.45	1.56	0.14	0.01	0.02	30.70	4.68	2.44	0.17	0.03	0.04
L.S.D. (P: 0.05)	04.51	0.46	0.94	0.05	0.002	0.004	03.82	0.51	1.94	0.06	0.004	0.005

Sampling date	VALLEY LAND					
	MC	pH	C	N	P	K
10 Sep.	42.73	4.50	3.00	0.21	0.04	0.01
20 Sep.	41.28	4.30	3.42	0.22	0.04	0.01
30 Sep.	40.63	4.40	2.96	0.22	0.04	0.02
10 Oct.	41.13	4.55	3.10	0.23	0.06	0.02
20 Oct.	42.68	4.35	3.28	0.22	0.05	0.02
30 Oct.	37.15	4.57	3.54	0.21	0.04	0.02
10 Nov.	38.45	4.26	3.59	0.20	0.04	0.02
20 Nov.	38.28	4.24	3.74	0.20	0.03	0.01
L.S.D. (P: 0.05)	05.21	0.47	2.89	0.05	0.004	0.004

sandy loam (sand 72%, silt 10% and clay 18%). Physico-chemical characteristics of different agricultural systems are given in table 1.

The soil samples were collected from potato fields under three different management systems. In one type farmers adapt slash and burn type of shifting cultivation mostly on the hillocks (slope land). The second type is done on bench terraces built on hill slopes. Between the hillocks some plain lands are found and on such lands permanent type of cultivation is done which is known as valley land. Sampling was done at ten days interval for two crop cycles from 10th September, 1985 to 20th November, 1985 and 10th September, 1986 to 20th November, 1986. Soil samples were collected from three depths (0-10, 10-20, and 20-30cm). The data correspond to mean of three replicate analysis of a mixed sample collected from five random sites in each field.

Soil plate method was used to assess fungal populations. Martin's rose bengal agar medium was used for the isolation of fungi (Johnson & Curl, 1972). The inoculated agar plates were incubated at 25°C and colonies were counted after five days. Similarity index was calculated by following Sorenson's (1948) model.

$$\textit{Similarity index}\ (\%) = \frac{2C}{A + B}\ x100$$

where A means total number of species in one system, B means total number of species in second system and C means total number of species common in both the systems.

Organic carbon, total nitrogen, available phosphorus and exchangeable potassium were determined by the Walkley & Black's method (1934), semi-micro Kjeldahl method (Allen, 1974), sulphomolybdic acid method and flame photometer method (Jackson, 1973) respectively. pH was measured in soil and in water mixture (1:5) using an electrical pH meter. Moisture content was assessed by oven dry method at 105°C. Statistical analysis of data was done by performing Lattice Square Design (LSD), which determines the significance of apparent difference in number of fungal propagules among soils from the different systems, with soil depth, and the significant changes in soil physico-chemical properties.

RESULTS AND DISCUSSION

Temporal and depthwise variation in fungal population of soils of three systems is given in Figure 1. The numbers of fungal propagules per gram dry soil were maximum in valley land soil and minimum in slope land soil. In depth wise studies fungal population was always highest in surface soil and decreased along with soil depth. In all the three systems highest fungal population was found in October, which was followed by a sharp decline (Fig. 1).

Decrease in fungal population along soil depth confirms the findings of Soderstrom (1975), Bisset & Parkinson (1979), Deka & Mishra (1984). Surface soil is usually provided with high organic matter content which in presence of adequate moisture supply is acted upon by microorganisms to decompose the complex organic residues into simpler forms, hence the microorganisms are higher on surface layer of the soil (Mishra & Kanaujia, 1972; Acea & Carballas, 1985). Generally, fungi found in deeper layer are slow growing due to unavailability of mineral nutrients and compaction of soil along depth (Saxena & Sarbhoy, 1963; Mishra, 1966; Dkhar, 1983). In the month of October at the

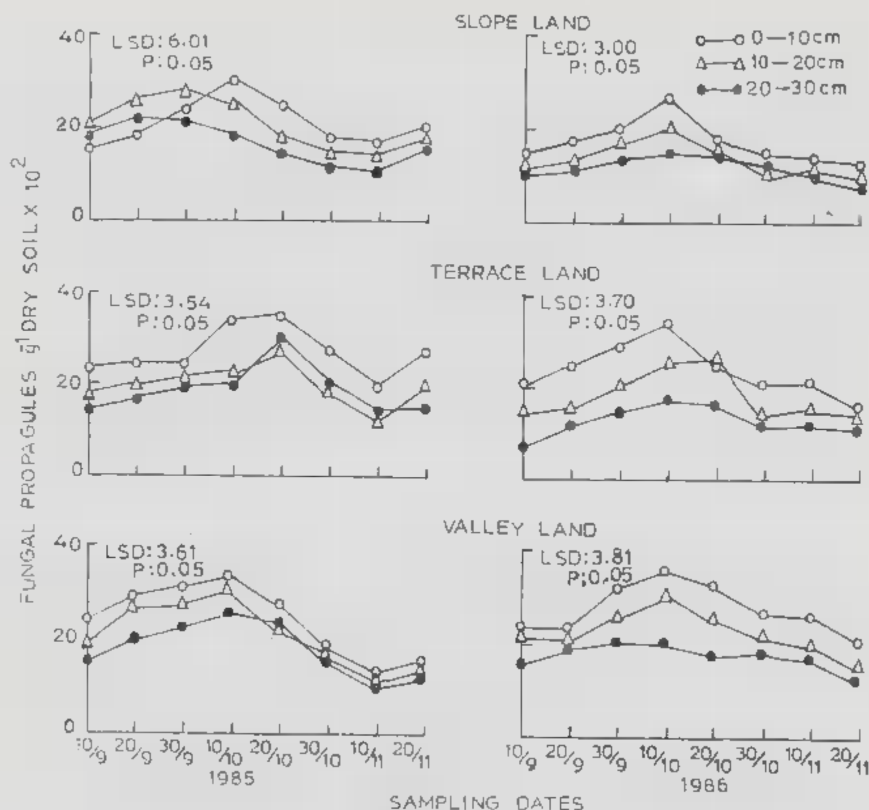


Fig. 1. - Number of fungi (fungal propagules) in different agricultural systems of potato field soil.

Fig. 1. - Nombre de champignons (propagules) dans différents systèmes agricoles de sol de culture de pomme de terre.

middle age of plants, high fungal population in deeper layer may be due to possible increase in root exudation (Rovira, 1956; Hassink et al., 1991). The maximum number of fungal propagules in valley land soil might be due to high concentration of organic carbon, nitrogen, phosphorus and potassium as compared to terrace and slope lands (Shukla et al., 1989).

A total number of 26 species were isolated from valley land soil. *Absidia glauca*, *Rhizopus oryzae* and *Emmonsiella capsulata* were isolated only from the surface layer (0-10cm) of soil, while *Alternaria alternata* and *Phoma* sp. were isolated only from the middle layer (10-20cm). *Monilia* sp., *Penicillium funiculosum* and *Trichoderma harzianum* were isolated only from 20-30cm depth soil. *Fusarium* sp., *Mucor hiemalis*, *M. racemosus*, *P. brevicompactum*, *P. chrysogenum* and *T. viride* were common at all the three depths of valley land soil (Table 2).

Twenty one species were isolated from terrace land soil. *A. alternata*, *Humicola fuscoatra* and *P. fellutanum* were restricted only to surface (0-10cm) soil. *Penicillium canescens* and *Pythium* sp. were isolated only from 20-30cm

depth soil. *Aspergillus flavus, Fusarium poae, M. hiemalis, M. plumbeus, M. racemosus, P. chrysogenum, P. brevicompactum* and *T. viride* were common fungi in all the three depths of terrace land soil (Table 3).

Table 2. - Fungal species per gram dry soil x 10^2 (mean of collection in respective months) at different depths for two crop cycles (1985-1986) in valley land soil.

Tableau 2. - Espèces fongiques par gramme de sol sec (x 10^2) aux différentes profondeurs et pour 2 cycles de récolte (1985-1986) en sol de vallée.

	(10-30 Sep.)			(10-30 Oct.)			(10-20 Nov.)		
Fungi	10cm	20cm	30cm	10cm	20cm	30cm	10cm	20cm	30cm
Absidia glauca Hagem	2.2	-	-	-	-	-	1.9	-	-
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	-	-	-	-	2.1	-	-	-	-
Aspergillus alutaceus Berk. & Curt.	-	-	1.2	-	-	-	-	-	-
Aspergillus flavus Link: Fries	-	2.1	2.5	-	3.2	3.2	-	-	-
Aspergillus niger V. Tiegh.	-	-	-	2.4	4.7	1.0	-	-	-
Emmonsiella capsulata Kwon-Chung	5.5	-	-	-	-	-	-	-	-
Fusarium oxysporum Schlecht em. Sny. & Hans.	5.4	4.2	3.2	-	-	-	-	3.0	-
Fusarium poae (Peck) Wollenw.	-	4.9	3.4	8.5	-	7.4	-	-	-
Fusarium solani (Mart.) Sacc.	-	-	1.2	-	5.5	-	2.0	-	-
Monilia sp.	-	-	1.1	-	-	-	-	-	-
Mortierella minutissima V. Tiegh.	6.5	4.3	-	6.2	5.0	2.1	-	2.0	-
Mucor circinelloides V. Tiegh.	-	-	-	-	-	-	5.4	-	5.1
Mucor hiemalis Wehmer	3.3	3.6	2.1	4.4	4.0	3.3	-	3.0	3.2
Mucor plumbeus Bonord.	2.2	4.5	4.0	3.9	7.1	2.9	5.6	2.1	2.4
Mucor racemosus Fres.	7.6	4.9	5.3	10.9	8.7	3.4	4.0	5.7	2.4
Penicillium brevicompactum Dierckx	3.3	-	-	7.8	4.4	-	7.0	3.2	-
Penicillium chrysogenum Thom	9.7	3.6	4.0	2.2	6.4	6.3	-	4.4	2.1
Penicillium fellutanum Biourge	-	4.3	3.2	-	-	-	-	2.6	-
Penicillium funiculosum Thom	-	-	1.9	-	-	-	-	-	-
Phoma sp.	-	3.2	2.2	-	4.4	-	-	-	-
Rhizopus oryzae Went & Prinsen	3.2	-	-	-	-	-	-	-	-
Trichoderma harzianum Rifai	-	-	2.5	-	-	-	-	-	4.1
Trichoderma viride (Pers.) Gray	4.3	5.7	3.2	3.1	2.1	3.4	4.7	-	4.2
Sterile white	2.3	6.2	2.2	3.6	5.5	7.6	5.4	4.4	3.0
Sterile yellow	3.2	3.2	2.1	4.5	2.2	1.2	4.0	2.3	2.1

Twenty seven species were isolated from slope land soil. *Arthrobotrys arthrobotryoides, Oidiodendron echinulatum, P. canescens, P. citrinum* and *Phoma* sp. were isolated only from middle layer (10-20cm) of soil, while *Rhizopus oryzae, T. koningii* and *Verticillium chlamydosporum* were isolated only from 20-30cm depth soil. *Aspergillus flavus, M. hiemalis, M. plumbeus, M. racemosus, F. oxysporum, P. chrysogenum, P. brevicompactum* and *T. viride* were common in all the three depths (Table 4).

The effect of temperature and moisture could not be separated for *Absidia corymbifera, H. fuscoatra* and *Pythium* sp. in terrace land where combined temperature and moisture were high. *Absidia glauca, Aspergillus alutaceus* and *Emmonsiella capsulata* appeared to be adapted to high moisture content (Baruah, 1983) and were found in the valley land. *Trichoderma koningii* appeared in the last phase of the study when both temperature and moisture were low. Dowding & Widden (1974) concluded that pH, temperature and moisture were the most important factors affecting the composition of mycoflora over 21 arctic and alpine tundra sites. The genus *Aspergillus* is extremely common in subtropical soils (Saxena & Sarbhoy, 1963). *Verticillium chlamydosporum* and *Verticillium* sp. had a very restricted distribution and were isolated twice only in slope and terrace land, showed an extremely aggregated pattern of distribution. Species with high colonization densities usually had comparatively high communities. *F. oxysporum, M. plumbeus, M. racemosus, P. brevicompactum, P. chrysogenum* and *T. viride* were the common fungi in all the fields. Species of

Mucor, *Penicillium* and *Trichoderma* seem to be tolerant to ■ wider range of environmental conditions. Mishra & Kanaujia (1973) isolated more diverse microflora from cultivated soil as compared to grassland and forest soils and they found that *M. hiemalis*, *A. flavus*, *A. niger*, *P. chrysogenum* and *Cladosporium herbarum* were the most dominant fungi. Species of *Penicillium*, *Fusarium*, *Mucor* and *Trichoderma* were also dominant fungi in maize (Dkhar, 1983) and rice fields (Baruah, 1983) due to cold climate and acidic nature of soils of the region. For a given community, it is generally observed that one or a few species are numerically predominant and may strongly affect environmental conditions for other species (Durall & Parkinson, 1991; Wardle & Parkinson, 1991). In the present study, few species were regularly isolated at relatively high frequencies. These species also had the most wide-spread and least aggregated distributions. The low levels of aggregation observed for these species may reflect a relatively broad or diverse niche space that may be the result of successful adaptation to many dimensions in the system.

Table 3. - Fungal species per gram dry soil x 10^2 (mean of collection in respective months) at different depths for two crop cycles (1985-1986) in terrace land soil.

Tableau 3. - Espèces fongiques par gramme de sol sec (x 10^2) aux différentes profondeurs et pour 2 cycles de récolte (1985-1986) en sol de culture en terrasse.

	(10-30 Sep.)			(10-30 Oct.)			(10-20 Nov.)		
Fungi	10cm	20cm	30cm	10cm	20cm	30cm	10cm	20cm	30cm
Alternaria alternata (Fr.) Keissler	1.0	-	-	-	-	-	-	-	-
Absidia corymbifera (Cohn) Sacc. & Trotter	-	3.2	2.2	2.1	3.3	-	-	-	-
Aspergillus flavus Link: Fries	-	-	1.0	5.2	1.1	2.2	-	-	2.0
Aspergillus niger V. Tiegh.	-	-	-	4.2	5.4	2.9	7.5	5.7	2.7
Fusarium oxysporum Schlecht em. Sny. & Hans.	5.2	2.5	3.3	3.8	2.7	-	2.7	-	-
Fusarium poae (Peck) Wollenw.	5.1	3.1	-	4.1	3.1	5.5	3.6	2.7	-
Fusarium solani (Mart.) Sacc.	-	-	3.1	-	-	2.3	-	-	-
Humicola fuscoatra Traaen	2.1	-	-	-	-	-	2.5	-	-
Monilia sp.	-	2.1	1.0	3.8	2.9	2.9	3.8	2.8	2.9
Mortierella minutissima V. Tiegh.	-	2.2	-	-	2.0	-	1.9	-	-
Mucor circinelloides V. Tiegh.	-	-	-	2.7	-	-	-	4.8	-
Mucor hiemalis Wehmer	3.1	-	2.0	3.8	1.0	2.2	-	-	-
Mucor mucedo Linnaeus: Fries	2.1	2.9	3.2	-	-	1.9	-	-	-
Mucor plumbeus Bonord.	3.9	-	1.1	7.8	4.6	2.8	2.9	3.0	4.6
Mucor racemosus Fres.	9.5	4.9	3.2	2.0	-	3.2	2.6	1.9	-
Penicillium brevicompactum Dierckx	3.2	2.1	2.2	5.[illegible]	7.9	2.9	2.9	4.5	4.7
Penicillium canescens Sopp	-	2.1	-	-	-	3.9	-	-	-
Penicillium chrysogenum Thom	8.7	6.3	4.8	5.2	4.0	-	4.8	2.0	2.9
Penicillium fellutanum Biourge	2.1	-	-	9.1	-	-	4.7	-	3.0
Phoma sp.	-	-	-	-	-	-	-	-	1.9
Pythium sp.	-	-	-	-	-	-	-	1.9	-
Trichoderma harzianum Rifai	-	2.1	1.1	-	-	-	-	-	-
Trichoderma viride (Pers.) Gray	7.9	7.8	3.2	4.1	1.9	-	3.9	-	2.1
Verticillium sp.	-	-	-	-	-	3.0	-	-	3.0
Sterile	2.2	1.3	-	2.9	2.7	2.9	-	2.7	1.9

The majority of the taxa showed change in quantity with soil depth. In agriculture system, widely changes in community structure take place at the surface layer. At greater depth, differences of distribution level or patterns are usually reversed according to the prevailing conditions (water, potential oxygen and substrate availability) at various intervals after the respective operations (Domsch, 1986). It is clear from the results that systems differed from one another as far as soil nutrients are concerned. It has been demonstrated that the occurrence of fungal species depend upon soil type, soil moisture, mineral nutrition and temperature (VanVuurda & Schippers, 1980). The major elements essential for germination of fungal propagules in soil are nitrogen, carbon and iron (Benson & Baker, 1970; Kloepper et al., 1980). An estimation of the influ-

ence (positive or negative) of man's activities ranks the impact on some natural soil properties in the following order, structure = aeration = pH = nutrient status = toxic substances > depth of arable layer = water status = organic matter content = soil organisms > sorption capacity = humus quality (Sauerbeck, 1985).

Table 4. - Fungal species per gram dry soil x 10^2 (mean of collection in respective months) at different depths for two crop cycles (1985-1986) in slope land soil.

Tableau 4. - Espèces fongiques par gramme de sol sec (x 10^2) aux différentes profondeurs et pour 2 cycles de récolte (1985-1986) en sol de versant.

	(10-30 Sep.)			(10-30 Oct.)			(10-20 Nov.)		
Fungi	10cm	20cm	30cm	10cm	20cm	30cm	10cm	20cm	30cm
Absidia corymbifera (Cohn) Sacc. & Trotter	3.1	2.4	2.8	2.1	3.4	-	-	2.1	1.5
Arthrobotrys arthrobotryoides (Berl.) Lindau	-	-	-	-	-	11.6	-	-	-
Aspergillus flavus Link: Fries	-	4.5	0.9	-	2.6	1.7	-	-	-
Aspergillus niger V. Tiegh.	-	0.9	-	16.8	4.2	-	-	-	-
Fusarium oxysporum Schlecht em. Sny. & Hans.	4.4	11.5	5.7	8.7	2.4	3.5	-	-	-
Fusarium poae (Peck) Wollenw.	-	-	-	1.7	-	-	-	-	-
Fusarium solani (Mart.) Sacc.	-	-	-	3.8	6.4	-	-	-	-
Monilia sp.	-	1.5	2.7	-	1.6	1.8	2.4	1.6	-
Mortierella minutissima V. Tiegh.	-	1.9	2.7	-	2.6	4.7	-	-	-
Mucor hiemalis Wehmer	-	-	1.9	3.9	3.6	1.8	7.5	7.2	4.9
Mucor plumbeus Bonord.	5.3	10.6	6.8	5.0	10.1	6.2	3.7	1.7	2.3
Mucor racemosus Fres.	5.1	5.2	5.2	4.5	4.8	2.9	6.5	6.2	7.2
Oidiodendron echinulatum Barron	-	0.9	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium brevicompactum Dierckx	-	2.6	1.9	[illegible]	-	-	-	1.9	3.2
Penicillium canescens Sopp.	-	1.9	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium chrysogenum Thom	3.4	6.1	7.8	2.5	5.2	-	3.5	3.5	2.0
Penicillium citrinum Thom	-	3.2	-	-	-	-	-	-	-
Penicillium fellutanum Biourge	-	-	-	-	2.5	1.7	-	-	2.1
Phoma sp.	-	-	-	-	8.6	-	-	-	-
Rhizopus oryzae Went & Prinsen	-	-	-	-	-	2.8	-	-	-
Trichoderma hamatum (Bon.) Bain.	-	1.5	1.9	-	-	-	-	-	0.7
Trichoderma harzianum Rifai	3.8	7.8	1.8	5.6	2.4	8.0	-	6.8	-
Trichoderma koningii Oudem.	-	-	-	-	-	1.7	-	-	-
Trichoderma viride (Pers.) Gray	5.0	-	7.8	5.0	5.8	8.2	2.2	2.2	1.8
Verticillium sp.	-	-	-	3.7	-	-	-	-	-
Verticillium chlamydosporum Goddard	-	-	3.8	-	-	-	-	-	-
Sterile	3.4	-	1.9	5.2	-	3.1	2.9	-	-

Similarity index of fungal communities of different systems at different depths was calculated (Table 5). In valley land, fungal species composition of 0-10cm depth was similar to 10-20cm depth (68%) and 10-20cm was similar to 20-30cm depth (78%), while 0-10cm was less similar to 20-30cm depth (64%). In terrace land there was no marked difference in fungal species composition of the three depths or soils. In slope land soil 0-10cm depth was more similar to 20-30cm depth as compared to 10-20cm depth. When the fungal communities of 0-10cm depths of the three management systems were compared, it was found that similarity index among three systems varied between 66 and 70%, while at 10-20cm depths it varied between 50 and 70% and in 20-30cm depths the variation was between 61 and 75%. Among all the three systems it was noted that the species composition of the valley land was more similar to terrace land and it differed markedly from slope land soils. Taking similarity index of the fungal community as an index of homogeneity of habitat (Clarke & Christenson, 1981), it may be suggested that soil up to a depth of 30cm was almost homogeneous. However, same does not hold true when we look at the population of fungi (Fig. 1). It appears that during digging or ploughing the soil is mixed, thus the fungal species are distributed almost uniformly upto the depth studied. Also it may be inferred that most species were capable of colonizing the soil up to 30cm depth of soil.

Table 5. - Comparison of soil fungi using model of Sorenson (1948) for similarity index (%) at different depths and in different systems.

Tableau 5. - Comparaison des champignons de sol en utilisant le modèle de Sorenson (1948) pour les indices de similarité (%) aux différentes profondeurs et pour les différents systèmes agricoles.

Slope land (SL)	Terrace land (TL)	Valley land (VL)
10cm x 20cm = 84	10cm x 20cm = [illegible]	10cm x 20cm = 58
10cm x 30cm = 91	10cm x 30cm = 78	10cm x 30cm = 64
20cm x 30cm = 58	20cm x 30cm = 73	20cm x 30cm = [illegible]

10cm	20cm	30cm	Different systems
VL x TL = 68	VL x TL = 55	VL x TL = [illegible]	VL x TL = 73
TL x SL = 70	TL x SL = 70	TL x SL = 71	TL x SL = 71
VL x SL = 66	VL x SL = 65	VL x SL = 61	VL x SL = 67

REFERENCES

ACEA M.J. and CARBALLAS T., 1985 - First result of study of the microbial population of humid zone granitic soils. *Edafol. Agrobiol.* 44: 395-412.

ALLEN S.E., 1974 - *Chemical analysis of ecological materials.* Oxford, Blackwell Sci. Publ., 565 p.

BARUAH M., 1983 - *Studies on population dynamic and activity measurement of microbial communities of paddy field soil.* Ph. D. thesis, North-Eastern Hill University, Shillong, India.

BENSON D.M. and BAKER R., 1970 - Rhizosphere competition model in soil systems. *Phytopathology* 60: 1058-1061.

BISSETT J. and PARKINSON D., 1979 - The distribution of fungi in some alpine soils. *Canad. J. Bot.* 57: 1609-1629.

CHRISTENSEN M., 1969 - Soil microfungi of dry to mesic conifer-hardwood forests in northern Wisconsin. *Ecology* 50: 9-27.

CLARKE D.C. and CHRISTENSEN M., 1981 - The soil microfungal community of a South Dacota grassland. *Canad. J. Bot.* 59: 1950-1960.

CLARK F.E. and PAUL E.A., 1970 - The microflora of grassland. *Adv. Agron.* 22: 375-435.

DAKA H.K. and MISHRA R.R., 1984 - Distribution of soil microflora in jhum fallows in north-east India. *Acta Bot. Indica* 12: 180-184.

DKHAR M.S., 1983 - *Studies on ecology of edaphic microbial populations and their activities in maize fields.* Ph. D. Thesis, North-Eastern Hill University, Shillong, India.

DOMSCH K.H., 1986 - Influence of management on microbial communities in soil. *In:* V. JENSEN, A. KJOLLER & L.H. SORENSEN, *Microbial communities in soil.* London, Elsevier Appl. Sci. Publ., 105-112.

DOWDING P. and WIDDEN P., 1974 - Some relationship between fungi and their environment in tundra regions. *In:* A.J. HOLDING, O.W. HEAL, S.F. MacLEAN Jr. & P.W. FLANAGAN, *Soil organisms and decomposition in tundra.* Stockholm, Tundra Biome Steering Committee, 123-150.

DURALL D.M. and PARKINSON D., 1991 - Initial fungal community development on decomposing timothy *(Phleum pratense)* litter from a reclaimed coal mine spoil in Alberta, Canada. *Mycol. Res.* 95: 14-18.

HASSINK J., OUDEVOSHAAR J.H., NIJHUIS E.H. and VANVEEN J.A., 1991 - Dynamics of the microbial populations of a reclaimed polder soil under a conventional and a reduced input farming system. *Soil Biol. Biochem.* 23: 515-524.

JACKSON M.L., 1973 - *Soil chemical analysis.* New Delhi, Printice Hall India (P) Limited.

JOHNSON L.F. and CURL E.A., 1972 - *Methods for research on ecology of soil borne plant pathogens.* Minneapolis, Burgess Publishing Co.

KLOEPPER J.W., LEONG J., TEINTZE M. and SCHROTH M.N., 1980 - *Pseudomonas* siderophores: a mechanism explaining disease suppressive soils. *Curr. Microbiol.* 4: 317-320.

LEWIS J.K., DODD J.L., HUTCHENSEN H.L. and HANSEN C.L., 1971 - Antibiotic and harbage dynamics studies on the cotton site. U.S. IBP Tech. Rep. No. 111, Colorado, Colorado State Univ.

MISHRA R.R., 1966 - Influence of soil environment and surface vegetation on soil mycoflora. *Proc. Natl. Acad. Sci. India* 36B: 117-123.

MISHRA R.R. and KANAUJIA R.S., 1972 - Studies on certain ecological aspects of soil fungi I. *Trop. Ecol.* 13: 5-11.

MISHRA R.R. and KANAUJIA R.S., 1973 - Studies on certain ecological aspects of soil fungi II. *Edafol. Agrobiol.* 32: 21-34.

MISHRA R.R. and SHARMA G.D., 1977 - Ecology of soil fungi: Population variation in relation to varying cover vegetation and soil factors. *Sydowia Ann. Ser.* 30: 134-140.

ROVIRA A.D., 1956 - Plant root excretion in relation to rhizosphere effect. III. The effect of root exudate on number and activity of microorganisms in soil. *Plant Soil* 7: 209-217.

SAUERBECK D., 1985 - *Funktionen, gute und belastbarkeit des bodens aus agrikultur chemister sicht materialien zur umweltforschung.* Stuttgart, Verlag W. Kohlhammer.

SAXENA R.K. and SARBHOY A.K., 1963 - Ecology of soil fungi of Utter Pradesh. *Proc. Natl. Inst. Sci. India* 29: 207-224.

SHUKLA A.K., TIWARI B.K. and MISHRA R.R., 1989 - Temporal and depthwise distribution of microorganisms, enzyme activities and soil respiration in potato field soil under different agricultural systems in north-eastern hill region of India. *Rev. Ecol. Biol. Sol* 26: 249-265.

SODERSTROM B.E., 1975 - Vertical distribution of microfungi in a spruce-forest in the south of Sweden. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 65: 419-425.

SODERSTROM B.E., BAATH E. and LUNDGREN B., 1983 - Decrease in soil microbial activity and biomass owing to nitrogen amendments. *Canad. J. Microbiol.* 29: 1500-1506.

SORENSON T., 1948 - A method for establishing groups of equal amplitude in plant sociology based on sij similarity of species content. *Kongel. Danske Vidensk. Selsk. Biol. Skr.* 5: 1-34.

VANVUURDE J.W.L. and SCHIPPERS B., 1980 - Bacterial colonization of seminal wheat roots. *Soil Biol. Biochem.* 12: 559-565.

WALKLEY A. and BLACK I.A., 1934 - An examination of the Detjaref method for determining soil organic matter and proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-34.

WARDLE D.A. and PARKINSON D., 1991 - Analysis of co-occurrence in a fungal community. *Mycol. Res.* 95: 504-507.

WIDDEN P., 1979 - Fungal population from forest soils in Southern Quebec. *Canad. J. Bot.* 57: 1324-1331.

ANALYSES BIBLIOGRAPHIQUES

HAWKSWORTH D.L., 1991 - Frontiers in Mycology - Honorary and general lectures from the Fourth International Mycological Congress, Regensburg, Germany, 1990. Oxon, CAB International, X, 290p. ISBN 0-85198-698-6. £ 40.00

Les conférences générales prononcées lors du 4° congrès International de Mycologie (Regensburg 1990) mettent en évidence les domaines très divers utilisés par la mycologie, ou dans lesquels la mycologie est impliquée. Elles sont réparties, dans cet ouvrage, en 4 parties.

Biologie moléculaire et développement - K. ESSER (Molecular aspects of ageing: facts and perspectives, pp. 3-25) propose, en s'appuyant sur les aspects moléculaires du vieillissement (ici celui de *Podospora anserina*), un modèle pour expliquer la formation du plasmide mitochondrial et son interdépendance avec le génome nucléaire; ces études ont une implication dans les recherches sur le cancer et en génie génétique. J.G.H. WESSELS (Fungal growth and development: molecular perspective, pp. 27-48) souligne que l'étude moléculaire de la croissance et du développement fongique pourrait entrainer de nouvelles idées sur la façon dont les hyphes colonisent leur substrat par extension apicale, et comment elles sont impliquées dans la formation de structure aériennes comme les carpophores. Enfin, G. WINKELMANN (Importance of siderophores in fungal growth, sporulation and spore germination, pp. 49-65), analyse le rôle des sidérophores dans la croissance des champignons (mécanismes d'absorption du Fe), dans la formation des conidies (expériences avec des mutants sans sidérophores), dans la germination des spores pour laquelle la présence de certains sidérophores cellulaires paraît essentielle.

Evolution et phylogénie - H. KREISEL (Neoteny in the phylogeny of Eumycota, pp. 69-83) illustre par des exemples parmi les Eumycota (rouilles ...), le rôle de l'écourtement du cycle de vie des champignons dans la phylogénie. Ce rôle est interprété comme un cas de néoténie. J. POELT (Homologies and analogies in the evolution of lichens, pp. 85-97) attire l'attention sur les caractères analogues et homologues nécessaires au développement des taxonomies, et interprète les thalles de lichens foliacés comme des structures excipulaires formées précocement dans lesquelles le devéloppement de l'hyménium a été retardé.

Importance dans les écosystèmes et pour l'homme - D.J. READ (Mycorrhizas in ecosystems - Nature's response to the "Law of the Minimum", pp. 101-130) conclut que la dynamique des nutriments des écosystèmes terrestres peut être comprise en termes d'activité de leurs champignons mycorhiziques, et que dans chaque système ceux-ci ont été sélectionnés pour pourvoir à leur plantes hôtes l'accès aux éléments clés, qui, comme le prédisait Liebig, limiterait à d'autres égards le développement des plantes. O. MALE (The significance of mycology in Medicine, pp. 131-156) fait une synthèse sur la fréquence, l'étiologie, les habitats naturels, la pathogenèse, la nomenclature, les aspects cliniques des champignons en médecine; il clarifie la distinction entre les différentes mycoses. J. LACEY (Aerobiology and health: the role of airborne fungal spores in respiratory disease, pp. 157-185) résume la détermination et le

contrôle de la nature des troubles respiratoires, dépendant du type de spores (pycotoxines produites), de la nature de l'exposition et de la réaction immunologique du sujet. D.H.S. RICHARDSON (Lichens and man, pp. 187-210) aborde non seulement l'utilisation des lichens par l'homme mais aussi l'effet anthropique sur les communautés lichéniques, l'effet détériorant des lichens (oeuvres d'art, monuments ...) ou encore les relations lichens-pollution. La conférence de H. FAULSTICH (Modified amatoxins and phallatoxins for biochemical, biological and medical research, pp. 211-224) est amplifiée par celle de J.D. MILLER (Mycology, mycologists and biotechnology, pp. 225-240) qui incite les mycologues traditionnels à jouer un rôle plus grand dans les intérêts industriels et biotechnologiques.

Conservation et éducation - Les deux dernières conférences, celle de E. ARNOLDS (Mycologists and nature conservation, pp. 243-264) et celle de J. WEBSTER (The teaching of mycology, pp. 265-278) sont étroitement liées. En effet, c'est dans la mesure où la mycologie sera plus et mieux enseignée, que l'intérêt du monde mycologique dans l'aménagement de la nature sera plus évident, la constitution de listes rouges et leur intérêt seront mieux perçues.

Ainsi, nous pouvons mieux nous rendre compte que les frontières de la mycologie sont loin d'être fixes et imperméables, sans pour autant aller jusqu'à dire que les champignons sont partout.

D. Lamy

CORLETT M., 1991 - An annotated list of the published names in *Mycosphaerella* and *Sphaerella*. Mycologia Memoir n° 18, 328 pages. Berlin, Stuttgart, Cramer. 128 DM. ISBN 3-443-76008-2.

Mycosphaerella Johanson (1884) est un genre de Dothideaceae comprenant un grand nombre d'espèces. Il est caractérisé par des ascomes sans paraphyses, le plus souvent uniloculaires, des asques ventrus, ovoïdes ou oblongs allongés, quelque peu clavés. Les spores sont hyalines, fusiformes à ovoïdes ou allongées.

Un résumé de la fluctuante histoire du nom *Mycosphaerella* Johanson et de son ancêtre *Sphaerella* (Fries) Rabenhorst (1856) a été publié par L. Holm (1975) puis Corlett (1988).

Le nom de *Sphaerella*, bien qu'il ait été utilisé depuis longtemps par les mycologues, doit être rejeté car il avait été attribué antérieurement à un groupe d'algues (*Sphaerella* Sommerfelt, 1824). Pour compliquer encore les choses, un autre *Sphaerella* a été proposé par Cesati et de Notaris en 1863. Il est maintenant considéré comme synonyme de *Mycosphaerella* Johanson.

Cette confusion des genres explique qu'il existe actuellement plus de 1800 espèces de *Mycosphaerella* et *Sphaerella* dans la littérature.

L'ouvrage de Corlett qui nous est proposé ici, est une compilation des noms d'espèces et de sous-espèces décrits à ce jour. L'auteur a disposé en ordre alphabétique les noms des taxa suivis des noms d'auteur, du titre de la publication, de l'année puis des dimensions des ascomes (a), des asques (b) et ascospores (c) en μm, de l'hôte sur lequel le champignon a été isolé et du pays d'origine, enfin du nom de l'anamorphe avec la référence afférente. Le basionyme est donné pour les combinaisons ainsi que les synonymes. 29 de ces derniers, désignés comme "current names", correspondent aux noms couramment acceptés.

Cette longue liste, qui occupe 226 pages, est suivie d'un index alphabétique des hôtes puis des anamorphes. Elle a le mérite de mettre de l'ordre et de clarifier la position de taxa inclus dans des genres différents et dont la nomenclature était particulièrement compliquée. Cet effort de clarification et de précision sera particulièrement apprécié des taxonomistes.

M.F. Roquebert

VITTADINI C., 1991 - *Monographia Tuberaceum.* AUGUADRI A., LUCCHINI G., RIVA A., TESTA E., *Tratufi del Cantone Ticino. Funghi Ipogei*, Societa Micologica "Carlo Benzoni", Chiasso,

L'essentiel de l'ouvrage est consacré à la réimpression de *Monographia Tuberaceum* de Carlo Vittadini, dans son texte latin, accompagnée d'une traduction intégrale, en italien, de Giacomo Lazzari. L'iconographie, fidèlement reproduite est présentée dans sa version originelle, c'est-à-dire coloriée.

La seconde partie, *Tartufi del Cantone Ticino*, est plus particulièrement réservée aux Hypogés du Tessin. On y trouve les travaux de O. Mattirolo, avec le "Catalogo ragionato dei funghi ipogei" (*in* Contributi per lo studio della Flora crittogama svizzera, Zürich 1935), et de C. Benzoni, ainsi que les observations des A. sur les récoltes d'Hypogés du Tessin depuis la publication de C. Benzoni, sous une forme détaillée, abondamment et très bien illustrée.

Très soigné, bien présenté, cet ouvrage devrait intéresser les spécialistes en mettant à leur portée des travaux de base devenus difficilement consultables. Il leur apportera, par ailleurs, une bonne mise au point sur la flore actuelle des Hypogés du Tessin.

R. Cailleux

TULLOSS R.E., OVREBO C.L. & HALLING R.E., 1992 - Studies on *Amanita (Amanitaceae)* from Andean Colombia. *Mem. N.Y. Bot. Gard.*, vol. 66: 1-46, 36 fig. (dessins au trait et phot. noir et blanc).

Sous une forme très classique, cet opuscule présente des clés de détermination et la description des treize espèces du genre *Amanita* récoltées jusqu'ici dans les Andes colombiennes. Venant pour la plupart dans les forêts à *Quercus humboldtii*, *Amanita arocheae* et *A. aureomonile* poussant toutefois sous *Colombobalanus excelsa*, ces amanites appartiennent aux sections *Amanita* et *Vaginatae* du sous-genre *Amanita* ainsi qu'aux sections *Lepidella*, *Phalloideae* et *Validae* du sous-genre *Lepidella*. Les Auteurs qui s'appuyent sur de nombreux travaux concernant le genre dans le monde entier, proposent comme nouvelles neuf espèces et deux variétés d'*A. flavoconia*. Pour chaque taxon, l'analyse des caractères macro- et microscopiques, détaillés et illustrés, sert de point de départ à une discussion comparative avec des amanites voisines taxinomiquement mais de répartition géographique différente. Cette étude très sérieusement documentée apporte une notable contribution à la connaissance des Basidiomycètes du continent sud-américain.

J. Perreau

Societat Catalana de Micologia, Barcelona:
Butlleti, n° 13, juin 1990, 72 p., 1 pl. phot. col.;
Bolets de Catalunya, IX Col.lecció, 1990, 50 pl. col. (N° 401-450), sous encart;
Fichas tecnicas, VIIa serie, juin 1990, n° 190 à 216, ill. au trait.

Ces diverses publications témoignent du dynamisme que manifeste la Société Mycologique de Catalogne et sont appréciées par tous ceux qui s'attachent à augmenter sans cesse leur documentation, iconographique en particulier, sur les champignons.

Le Bulletin rend compte de la vie de l'association et porte à la connaissance des adhérents de nombreuses informations utiles telles que parutions nouvelles en matière d'ouvrages ou annonce de conférences, expositions, sorties et journées mycologiques. Accompagnés de dessins au trait, parfois de photographies - en noir et blanc ou en couleurs - et éventuellement de cartes, les articles présentés dans ce périodique semblent plus volontiers consacrés aux Macromycètes, même si les Myxomycètes, par exemple, font l'objet d'une assez longue note dans le fascicule n° 13. Les thèmes généralement retenus vont de l'inventaire régional avec listes de récoltes commentées à des études descriptives de genres et espèces: *Lactocollybia*, *Lepiota*, *Tulostoma fimbriatum* sont ainsi examinés dans le numéro cité plus haut.

Sous le titre "Champignons de Catalogne" est édité un atlas constitué, sur des feuillets indépendants, par des photographies en couleurs, de format 13 x 19, 5cm et d'une qualité excellente. Chaque planche qui porte au dos la description de l'espèce figurée, en représente carpophores ou sporocarpes à maturité, mais souvent aussi des spécimens jeunes, des coupes, l'aspect de l'hyménophore pour les Basidiomycètes. Outre ces derniers sont également concernés des Ascomycètes et des Myxomycètes.

Les fiches techniques, séparables, correspondent pour beaucoup à des planches déjà publiées des "Bolets de Catalunya". Elles comportent au recto les indications taxinomiques, d'habitat et de récolte ainsi que l'énumération des caractères macro- et microscopiques. Au verso sont dessinés la silhouette générale, les profils sporaux ou ceux d'autres éléments morphologiques importants. Dans la série proposée en juin 1990, ces fiches concernent des espèces appartenant aux genres *Agrocybe*, *Amanita*, ... *Lactarius*, jusqu'à *Xerocomus*, en passant par *Ceratiomyxa*, *Myrothecium* ou *Stilbella*.

J. Perreau

o

o o

Le 6ème Congrès International de Phytopathologie se tiendra au Palais des Congrès de Montréal (Canada) du 28 juillet au 6 août 1993. (Doris Ruest, Conference coordinator: 6th International Congress of Plant Pathology, National Research Council Canada, Ontario, K1A OR6 Canada).

The 6th International Congress of Plant Pathology will be held in Montréal (Canada) from July 28 to August 6, 1993 (Doris Ruest, Conference coordinator: 6th International Congress of Plant Pathology, National Research Council Canada, Ontario, K1A OR6 Canada).



Commission paritaire 16-1-1986 - N° 58611 - Dépôt légal 2e trimestre 1992 - Imprimerie F. Paillart
Sortie des presses le 30 juin 1992 - Imprimé en France
Éditeur : A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames)
Président : R. Baudoin ; Secrétaire : D. Lamy
Trésorier : J. Dupont ; Directeur de la publication : H. Causse

CRYPTOGAMIE

LE PÉRIODIQUE FRANÇAIS CONSACRÉ A LA CRYPTOGAMIE

CRYPTOGAMIE est un périodique édité par l'A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames), dont le siège est au Laboratoire de Cryptogamie du Muséum National d'Histoire Naturelle. Les chercheurs de tous pays y publient leurs travaux en français, allemand, anglais, espagnol et italien, après accord des Comités de Lecture constitués de spécialistes de réputation internationale.

CRYPTOGAMIE propose trois sections:

Cryptogamie, Algologie
Cryptogamie, Mycologie
Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie

Chaque section publie 4 numéros par an (tirage: 450 exemplaires).

THE FRENCH JOURNAL DEVOTED TO CRYPTOGAMY

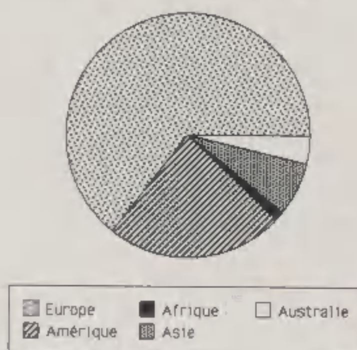
CRYPTOGAMIE is a periodical published by A.D.A.C. (Association des Amis des Cryptogames), settled at Laboratoire de Cryptogamie, Muséum National d'Histoire Naturelle. Research workers from the whole world publish their papers in French, German, English, Spanish and Italian, after acceptation by a selection commettee that comprises experts of international renown.

CRYPTOGAMIE offers to its subscribers three sections:

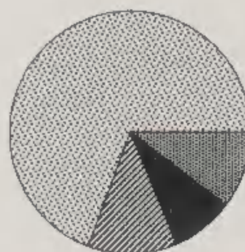
Cryptogamie, Algologie
Cryptogamie, Mycologie
Cryptogamie, Bryologie-Lichénologie

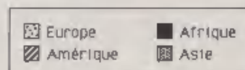
Each section publishes 4 numbers a year (printing: 450 ex.).

Diffusion de CRYPTOGAMIE

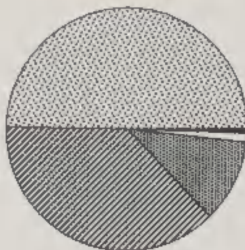


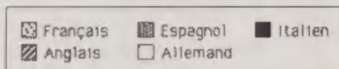
Origine des 453 articles publiés de 1986 à 1991





Répartition des articles publiés de 1986 à 1991 selon la langue





Source : MNHN, Paris

SOMMAIRE

Cryptogamie, Mycol. 1992, 13 (2): 79-148